Test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine uniquement.

Informations générales 2

Usage prévu 2
Résumé et explication du test 2
Principes de la procédure 3
Avertissements et précautions 4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs 7
Collecte et conservation des échantillons 8
Interprétation du test — QC/Résultats patients 38
Limites 41
Résultats des études cliniques 43
Valeurs attendues pour les DTS Systems 44
Performance clinique du test avec les DTS Systems 47
Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System 64
Performance analytique du TIGRIS DTS System 68
Performance analytique du PANTHER System 72
Bibliographie 74

DTS Systems 10
Réactifs et matériels fournis 10
Matériel requis mais disponible séparément 11
Matériel optionnel 12
Procédure de test avec les DTS Systems 13
Remarques concernant la procédure 19

TIGRIS DTS System 23
Réactifs et matériels fournis 23
Matériel requis mais disponible séparément 24
Matériel optionnel 25
Procédure de test pour le TIGRIS DTS System 26
Remarques concernant la procédure 30

PANTHER System 31
Réactifs et matériels fournis 31
Matériel requis mais disponible séparément 32
Matériel optionnel 33
Procédure de test pour le PANTHER System 33
Remarques concernant la procédure 36

Informations générales

Usage prévu

Le test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae est un test par sonde d'acide nucléique pour l'amplification de cible qui utilise la capture de cible pour la détection qualitative *in vitro* du RNA ribosomique (rRNA) de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) afin de faciliter le diagnostic des infections gonococciques de l'appareil génito-urinaire au moyen du TIGRIS DTS System, du PANTHER System ou de l'instrumentation semi-automatique des DTS Systems, comme indiqué. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus symptomatiques : échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon ; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus asymptomatiques : échantillons endocervicaux et vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon ; échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal[1] ; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test est également destiné à être utilisé pour l'analyse d'échantillons gynécologiques provenant aussi bien de patientes symptomatiques et asymptomatiques. Ces échantillons cervicaux collectés dans les flacons de solution PreservCyt peuvent être testés avant ou après le traitement du frottis. L'analyse des échantillons après traitement du frottis est limitée aux seuls échantillons traités avec le système ThinPrep 2000.

[1] Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal représentent une option de dépistage chez la femme lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué. Le kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal n'est pas prévu pour une utilisation à domicile.

Résumé et explication du test

Les infections à *Neisseria gonorrhoeae* représentent l'une des maladies sexuellement transmissibles les plus fréquentes au monde. En 2010, les Centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control) des États-Unis ont recensé, sur le territoire américain, un nombre de nouveaux cas d'infections à GC estimé à 309 341 (100,8 pour 100 000 personnes) (2).

N. gonorrhoeae est l'agent responsable des maladies gonococciques. *Les Neisseria* sont des diplocoques Gram-négatifs non motiles. La majorité des infections gonococciques prennent la forme d'infections du tractus génital inférieur dénuées de complications et peuvent être asymptomatiques. Toutefois, si elles ne sont pas traitées chez la femme, ces infections peuvent remonter vers l'utérus et provoquer des infections génitales hautes (PID). Ces infections génitales hautes (PID) se manifestent sous forme d'endométrites, de salpingites, de péritonites pelviennes et d'abcès ovario-tubaires. Un faible pourcentage des personnes souffrant d'infections gonococciques peut développer des infections gonococciques disséminées (DGI) (8, 11).

Le diagnostic conventionnel de l'infection à GC nécessite l'isolation de l'organisme dans un milieu sélectif ou l'observation des diplocoques sur des frottis à coloration de Gram (9). Les méthodes de culture peuvent offrir une bonne sensibilité clinique, mais elles dépendent fortement de la qualité de la manipulation des échantillons. De mauvaises conditions de conservation ou de transport des échantillons peuvent affecter la viabilité des organismes et donner des résultats faussement négatifs. En outre, des techniques d'échantillonnages médiocres, du matériel d'échantillonnage toxique et l'inhibition de la croissance par des composants de sécrétion corporelle peuvent également entraîner des résultats faussement négatifs (3, 10). Hormis les cultures, les méthodes couramment utilisées pour la détection de GC comprennent les tests de sonde DNA directs ainsi que les tests d'amplification de l'acide nucléique (Nucleic Acid Amplification Test, NAAT).

La première génération de NAAT pour GC présentait des problèmes techniques qui en ont limité la performance. Ces problèmes étaient notamment liés à des difficultés de traitement des échantillons et à leur inhibition pouvant introduire des résultats faussement négatifs (6). Le test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae (Test GC APTIMA) est un NAAT de deuxième génération qui utilise les techniques de capture de cible, d'amplification par transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA), ainsi que le test de protection contre l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible, et détecter l'amplicon. Des études récentes comparant la performance et l'inhibition des échantillons avec divers systèmes d'amplification ont démontré les avantages des techniques de capture de cible, de TMA, et de HPA (4, 7).

Conformément aux directives de dépistage de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* publiées en 2002, les CDC recommandent un certain nombre d'options de suivi après un test de dépistage positif « si l'on peut s'attendre à une valeur prédictive posiitve faible ou si un résultat faussement positif risque d'entraîner de sérieuses répercussions psychosociales ou légales » (1). L'une des ces options de tests supplémentaires peut consister à utiliser un test d'amplification de l'acide nucléique autorisé par la FDA qui utiliserait une autre cible que celle du test initial. Les tests GC APTIMA et APTIMA COMBO 2 ciblent chacun la sous-unité 16S de rRNA pour la capture et la détection. La capture de cible est similaire dans les deux tests, à cette différence toutefois que le test GC APTIMA reconnaît une région différente de la sous-unité 16S de rRNA pour la détection de celle du test APTIMA COMBO 2.

Principes de la procédure

Le test GC APTIMA associe les techniques de la capture de cible, de la TMA et du HPA.

Les échantillons sont collectés et transférés dans leurs tubes de transport d'échantillon respectifs. La solution de transport de ces tubes libère la cible rRNA et l'empêche de se détériorer pendant la période de conservation. Lorsque le test GC APTIMA est effectué en laboratoire, la molécule rRNA cible est isolée des échantillons en utilisant un oligomère de capture par la méthode dite de « capture de cible » à l'aide de microparticules magnétiques ; L'oligomère de capture contient une séquence complémentaire à une région précise de la molécule cible, de même qu'une chaîne de résidus de déoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, la région spécifique de la séquence de l'oligomère de capture se fixe sur une région précise de la molécule cible. Le complexe oligomère/capture de cible est ensuite capturé hors de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules poly-désoxythimidines liées covalentement aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cible capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées vers la paroi du tube à réaction par des aimants, et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les échantillons sont prêts à l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de tremper spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins de l'acide nucléique cible. La réaction TMA de Gen-Probe réplique une région spécifique du rRNA 16S de GC via des formes intermédiaires de DNA. On utilise un seul jeu d'amorces pour chaque molécule cible. La détection des séquences du produit de l'amplification du rRNA (amplicon) s'effectue par l'hybridation de l'acide nucléique. Une sonde DNA chimiluminescente monocaténaire, qui est complémentaire à une région de l'amplicon cible, est marquée avec une molécule d'ester d'acridinium. La sonde DNA marquée se combine à l'amplicon pour former des hybrides RNA:DNA stables. Le réactif de

sélection différencie la sonde hybridée de celle qui ne l'est pas, éliminant ainsi la génération de signal par la sonde non hybridée. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA:DNA marqués est mesurée en signaux de photons dans le luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (RLU).

Avertissements et précautions

A. Pour diagnostic *in vitro*.

B. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination avec le TIGRIS DTS System, consultez le *Manuel de l'opérateur du* TIGRIS DTS System *(TIGRIS DTS System Operator's Manual).*

C. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination avec le PANTHER System, consulter le *Manuel de l'opérateur du PANTHER System (PANTHER System Operator's Manual).*

Recommandations concernant les laboratoires

D. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.

E. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et réactifs du kit.

F. **Avertissement : produits irritants et corrosifs.** Éviter tout contact d'Auto Detect 1 et Auto Detect 2 avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, lavez la zone affectée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluer le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.

G. Les plans de travail, pipettes et tout autre matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

H. Il est fortement recommandé de réserver un espace de travail spécifique au test HPA pour minimiser la contamination par l'amplicon lors du test. Cette zone de travail devrait être éloignée du lieu de préparation du réactif, de capture de cible et d'amplification.

I. Pour éviter la contamination des différentes zones du laboratoire par l'amplicon, le sens de travail du laboratoire devrait être unidirectionnel : depuis la préparation des réactifs vers le test HPA. Les échantillons, le matériel et les réactifs ne doivent pas être ramenés là où une étape précédente a été effectuée. De la même manière, le personnel ne devrait pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans s'entourer de précautions adéquates pour éviter toute contamination.

Recommandations concernant les échantillons

J. Concernant les échantillons endocervicaux et urétraux mâles collectés à l'aide d'un écouvillon, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon APTIMA. Concernant la collecte des échantillons d'urine, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons d'urine

APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins. Concernant les échantillons collectés par la patiente ou par le clinicien à l'aide d'un écouvillon vaginal, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA.

K. Les dates de péremption figurant sur les kits de collecte concernent le site de collecte, et non l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés avant la date de péremption du kit de collecte, puis transportés et conservés conformément à la notice du test, sont valides pour être testés même si la date de péremption du tube de collecte est dépassée.

L. La solution PreservCyt a été validée en tant que milieu alternatif pour l'analyse par le test GC APTIMA. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt traités avec le processeur ThinPrep 3000 ou d'autres instruments n'ont pas été évalués pour la détection de *Neisseria gonorrhoeae* au moyen du test APTIMA GC.

M. Une fois l'urine versée dans le tube de transport d'urine, le niveau de liquide de ce tube doit se situer entre les deux lignes indicatrices noires sur l'étiquette du tube. Dans le cas contraire, l'échantillon doit être rejeté.

N. Observez des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

O. Les échantillons peuvent être infectieux. Utilisez les Précautions universelles en effectuant ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devrait être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.

P. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.

Q. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon sans écouvillon, avec deux écouvillons, un écouvillon de nettoyage, ou un écouvillon non fourni par Gen-Probe, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport d'échantillons sans écouvillon, vérifiez qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons APTIMA étant donné que ce type de tube ne comporte pas d'écouvillon.

R. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuer leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquots qui ont été retirés ultérieurement du flacon PreservCyt pour être analysés au moyen du test GC APTIMA doivent être traités en utilisant uniquement le kit de transfert d'échantillons APTIMA.

S. Si le bouchon d'un tube de transport APTIMA venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Suivez les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests

T. La performance des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon vaginal n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.

U. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas évaluée chez des adolescents de moins de 16 ans.

V. Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.

W. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de kits portant différents numéros de lots. Il est possible d'utiliser les contrôles et les solutions provenant de kits APTIMA portant différents numéros de lots.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

X. Des pointes de pipette munies de filtres hydrophobes doivent être utilisées. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification, et un deuxième pour les étapes HPA. Deux micro-pipeteurs doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour le transfert des échantillons et un deuxième pour la préparation des réactifs. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés conformément aux instructions indiquées sous *Procédure de test avec les DTS Systems*, *Remarques concernant la procédure*.

Y. Si vous utilisez des pipeteurs à répétition pour ajouter des réactifs, ne touchez pas le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.

Z. Un mélange adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats de test précis. Pour de plus amples détails, consultez les *Procédure de test avec les DTS Systems*, *Remarques concernant la procédure*.

AA. Réservez des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et HPA lors du test.

AB. La reproductibilité du test a été établie en utilisant le milieu de transport des écouvillons ensemencé avec rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée.

AC. Les cartes de protection doivent être jetées dans le récipient à déchets immédiatement après avoir été retirées des tubes réactionnels. Des cartes de protections neuves doivent toujours être utilisées : elles ne doivent jamais être réutilisées d'une étape à l'autre. Les cartes de protection doivent être fermement apposées sur le dessus de tous les tubes réactionnels.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

A. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :

Réactif d'amplification GC APTIMA

Réactif enzymatique APTIMA

Réactif-sonde GC APTIMA

Réactif de capture de cible B APTIMA

Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA

Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA

B. Les réactifs suivants restent stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :

Solution de reconstitution de l'amplification GC APTIMA

Solution de reconstitution enzymatique APTIMA

Solution de reconstitution de sonde GC APTIMA

Réactif de sélection APTIMA

C. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante):

Réactif de capture de cible GC APTIMA

Solution de lavage APTIMA

Tampon APTIMA pour solution de désactivation

Réactif huileux APTIMA

D. La préparation de réactif de capture de cible GC (working Target Capture Reagent, wTCR GC) est stable pendant 60 jours lorsqu'elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.

E. Une fois reconstitués, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification GC et le réactif-sonde GC restent stables pendant 60 jours s'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.

F. Jetez tout réactif reconstitué et wTCR non utilisé au bout de 60 jours ou après la date de péremption du lot de référence si celle-ci survient avant.

G. Les contrôles restent stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.

H. Les réactifs des flacons pour 50 tests restent stables pendant 48 heures lorsqu'ils sont conservés intégrés dans le TIGRIS DTS System.

I. La stabilité à bord des réactifs dans les flacons de 100 tests stockés à bord du TIGRIS DTS System est de 96 heures.

J. La stabilité à bord des réactifs stockés à bord du PANTHER System est de 72 heures.

K. Le réactif-sonde GC et le réactif-sonde GC reconstitué sont photosensibles. Conservez les réactifs à l'abri de la lumière.

L. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de contrôle peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces contrôles n'en affecte pas la performance. Les contrôles peuvent être utilisés en étant limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des contrôles limpides, il

est possible d'accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).

M. **Ne pas congeler les réactifs**.

Collecte et conservation des échantillons

Le test GC APTIMA est conçu pour détecter la présence de GC dans les échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, les échantillons d'urine féminins et masculins, et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. La performance avec des échantillons autres que ceux collectés avec les kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évaluée :

- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon
- Kit de collecte d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins
- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA
- Kit de transfert d'échantillons APTIMA (à utiliser avec les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)

A. Instructions de collecte :

Référez-vous à la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons utilisé pour toute instruction.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :
   a. Une fois l'écouvillon collecté, transportez-le et conservez-le dans le tube de transport d'échantillon sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être testés avec le test GC APTIMA dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
2. Échantillons d'urine :
   a. Les échantillons d'urine qui sont encore dans le récipient de collecte principal doivent être transportés au laboratoire à une température de 2 °C à 30 °C. Transférez l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Conserver entre 2 °C et 30 °C et testez dans les 30 jours qui suivent la collecte.
   b. Une fois collectés, transporter les échantillons d'urine traités dans le tube de transport d'échantillons d'urine APTIMA entre 2 °C et 30 °C et les conserver entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être testés avec le test GC APTIMA dans les 30 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

3. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt :
   a. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt destinés aux tests GC doivent être traités, en ce qui concerne la cytologie, et/ou transférés dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA dans les 30 jours qui suivent leur collecte lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C (reportez-vous à la section *Études de la stabilité des échantillons*).
   b. Si la procédure de retrait d'aliquot ThinPrep est utilisée, reportez-vous à *L'annexe du Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000* pour des instructions relatives au retrait d'aliquots. Transférez 1 mL de l'aliquot retiré dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA conformément aux instructions de la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA.
   c. Si l'échantillon est testé après analyse sur le processeur ThinPrep 2000, traitez l'échantillon de frottis en solution PreservCyt conformément au *Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000* et à la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA. Transférez 1 mL du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA.
   d. Une fois l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt Pap transféré dans le tube de transfert d'échantillon APTIMA, il doit être testé avec le test GC APTIMA dans les 30 jours s'il est conservé entre 2 °C et 8 °C ou 14 jours s'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Si une durée de conservation plus longue est nécessaire, congelez-le entre -20 °C et -70 °C jusqu'à 12 mois maximum après son transfert (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

C. Conservation des échantillons après les tests :
   1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.
   2. Les tubes de transport d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de film plastique ou d'aluminium propre.
   3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher et de reboucher des échantillons qui ont déjà été testés, les tubes de transport d'échantillons doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. **Évitez les projections et les contaminations croisées**.

Remarque : *Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations nationales et internationales applicables relatives au transport.*

DTS Systems

Les réactifs du test GC APTIMA sont énumérés ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae, 100 tests (2 boîtes) (référence 301091)

Boîte réfrigérée pour test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification GC APTIMA** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique APTIMA** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde GC APTIMA** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
TCR-B	**Réactif de capture de cible B APTIMA** *Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,35 mL
PGC/ NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient la quantité de rRNA estimée équivalente à 50 cellules GC (250 fg/ test*).*	3 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient la quantité de rRNA estimée équivalente à 1 IFU de CT (5 fg/test*).*	3 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage) :
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification GC APTIMA** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 9,3 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique APTIMA** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 3,3 mL
PR	**Solution de reconstitution de sonde GC APTIMA** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 x 12,4 mL

La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage) :
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
S	**Réactif de sélection APTIMA** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 31 mL
	Collets de reconstitution	3
	Cartes de protection	1 paquet

Boîte non réfrigérée pour test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	**Réactif de capture de cible GC APTIMA** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 22 mL
W	**Solution de lavage APTIMA** *10 mM de solution tamponnée HEPES contenant < 2 % de détergent.*	1 x 402 mL
DF	**Tampon APTIMA pour solution de désactivation** *800 mM de solution tamponnée de bicarbonate.*	1 x 402 mL
O	**Réactif huileux APTIMA** *Huile de silicone*	1 x 24,6 mL

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
LEADER HC+ luminomètre	104747-01
Système de capture de cible GEN-PROBE (Target Capture System, TCS)	104555
Incubateurs et vortexeurs :	
2 vortexeurs multi-tubes	*102160*
3 bain-maries circulateurs (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	*104586*
3 séparateurs pour bain-marie	*104627*
OU	
2 bains à chaleur sèche/vortexeurs SB100 (SB100 Dry heat bath/vortexer)	*105524*
Des bains SB100 supplémentaires peuvent être nécessaires si le volume de tests augmente	
APTIMA Auto Detect Kit	301048
2 pipeteurs à répétition eppendorf (Repeater Plus pipettors)	105725
2 pipeteurs, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Pipeteur eppendorf, 20 à 200 µL	105726

	Référence
Embouts pour pipeteur à répétition, 2,5 mL	21-381-329
Embouts pour pipeteur à répétition, 5,0 mL	21-381-330
Embouts pour pipeteur à répétition, 25,0 mL	21-381-115
Embouts, style P1000 *embout de diamètre spécial disponible uniquement chez Gen-Probe*	105049
Embouts de pipette de 20 µL à 200 µL	705512 (Fisher)
Unités de dix tubes (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Cassettes de dix embouts (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA	301162
Kit de transfert d'échantillons APTIMA	301154C
Solution étalon SysCheck	301078
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Récipients standard pour la collecte d'urine, sans conservateurs	—
Récipient plastique à large couvercle	—
Bouchons pénétrables APTIMA	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A

Matériel optionnel

	Référence
Kit de contrôles APTIMA	301110
Solutions APTIMA *Solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA*	302002C
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101
Panel d'essai STD	102325
Embouts, 1000 µL, conductibles, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 comprenant *Platine APTIMA COMBO 2 pour DTS 800 Systems Platine 105200* *Réservoir à réactif (quart de module de 40 mL) 104765* *Réservoir à réactif divisé en deux (quart de module de 19 mL x 2) 104763*	900932

Procédure de test avec les DTS Systems

A. Préparation du matériel

1. Préparez un premier bain-marie à 62 °C ± 1 °C (pour la capture de cible et l'hybridation des amorces), un second bain-marie à 42 °C ± 1 °C (pour l'amplification), et un troisième à 62 °C ± 1 °C (pour le test HPA). Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100* (*fiche d'application SB100*).
2. Avant d'entreprendre le test, essuyez les plans de travail et les pipeteurs avec une solution dhypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle le test sera effectué avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes avec envers plastifié.
3. Placez un nombre suffisant de cassettes à dix embouts dans le système de capture de cible (Target Capture System/TCS). Vérifiez que la bouteille de solution de lavage du TCS est remplie avec la solution de lavage APTIMA et que la rampe d'aspiration est branchée sur la pompe à vide. (Se référer au *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible [Target Capture System Operator's Manual]*.)

B. Reconstitution des réactifs

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre le transfert des échantillons.*

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification GC, le réactif enzymatique et le réactif-sonde GC, mélangez la solution de reconstitution aux flacons de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
   a. Mettez la solution de reconstitution appropriée avec le réactif lyophilisé. Les étiquettes ont différents codes couleur afin de pouvoir être correctement associées.
   b. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 1, Étape 1).
   c. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 1, Étape 2).
   e. Retournez délicatement l'assemblage bouteille/flacon. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon (Figure 1, Étape 3).
   f. Faites tournoyer délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Veillez à éviter de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 1, Étape 4).
   g. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau l'assemblage bouteille/flacon en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans la bouteille.
   h. Retirez le collet de reconstitution de la bouteille (Figure 1, Étape 6).
   i. Rebouchez la bouteille. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, Étape 7).

j. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, Étape 8).

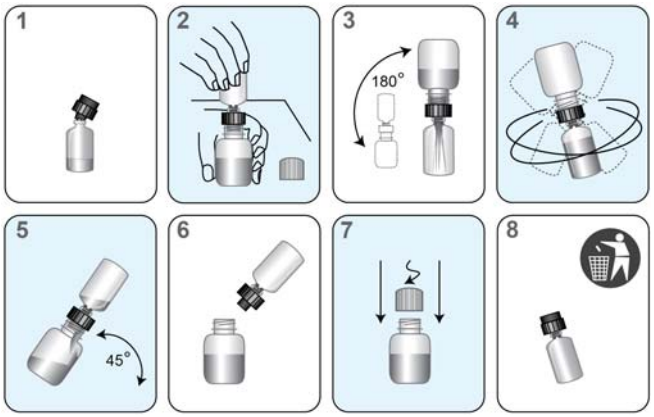

Figure 1. Procédure de reconstitution pour les DTS Systems

2. Les réactifs de sonde GC, d'amplification GC et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (15 °C à 30 °C) avant d'entreprendre un test. Si le réactif-sonde contient un précipité qui ne se dissolve pas à température ambiante, chauffez-le à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

Remarque : *Ces retournements devront être effectués chaque fois qu'un précipité se forme dans la solution, que ce soit par chauffage à 62 °C ou par réchauffement à température ambiante.*

3. Préparation de la solution de réactif de capture de cible GC (working Target Capture Reagent, wTCR GC)
   a. Transférez 20 mL de TCR GC dans un récipient propre et sec de la taille appropriée et réservé à cet effet.
   b. A l'aide d'un micro-pipeteur, ajoutez 200 µL de TCR-B dans le TCR GC.
   c. Tournez délicatement la solution pour bien la mélanger.
   d. Mettez une étiquette sur ce récipient. Notez les initiales de l'opérateur, la date de préparation et les deux numéros de lot.

Remarque : *Pour un petit nombre de réactions (échantillons et contrôles), utilisez la formule suivante pour calculer les volumes de TCR GC et TCR-B :*

Volume du TCR (mL) = (nombre de réactions + 5 réactions supplémentaires) x 0,1 mL

Volume du TCR-B (mL) = Volume du TCR (mL) / 100

C. Capture de cible

Le pipeteur à répétition utilisé pour la capture de cible et l'amplification doit être réservé à ces étapes uniquement. Consultez *Avertissements et précautions* pour de plus amples informations.

Préparation du portoir

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons**.

3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
   a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
   b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
   c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
   d. L'absence d'un écouvillon dans l'APTIMA tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Vérifiez les tubes de transport avant de les perforer :
   a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
   b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
   c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
   d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

5. Si des échantillons munis de bouchons standard (non pénétrables) sont testés, ils doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour que la totalité du liquide s'écoule au fond du tube avant de le déboucher. **Évitez les projections et les contaminations croisées.**
6. Placez un nombre suffisant d'unités de dix tubes (TTU) pour les contrôles et échantillons dans le portoir pour unités de dix tubes (TTU).
7. Si vous désirez établir une liste de travail, faites-le à ce moment-là. Pour créer une liste de travail, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test APTIMA (APTIMA Assay Software Operator's Manual)*.
8. Mélanger à fond la solution wTCR GC. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL dans chaque tube réactionnel.
9. **Le premier tube réactionnel doit contenir le contrôle négatif, et le second le contrôle positif.**
   a. L'étiquette du contrôle négatif du test GC APTIMA est rose. Le texte de l'étiquette désigne le contrôle négatif comme suit : « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ». L'étiquette du contrôle positif du test GC APTIMA est bleu-vert. Le texte de l'étiquette désigne le contrôle positif comme suit : « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ».
   b. Tenez le tube de contrôle négatif (tube avec étiquette rose) d'une main ou laissez-le dans un portoir. A l'aide d'un micro-pipeteur, perforez le bouchon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube. Ajoutez 400 µL de contrôle négatif (tube avec étiquette rose) au premier tube réactionnel. En procédant de la même manière et à l'aide d'un nouvel embout de pipette, ajoutez 400 µL de contrôle positif (tube avec étiquette bleue-verte) au second tube réactionnel.

10. Continuez la préparation du portoir en ajoutant 400 µL de chaque échantillon dans les tubes réactionnels restants. Utilisez un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et contrôle. Le volume d'échantillon ou de contrôle pouvant être ajouté à un tube réactionnel est de 400 µL ± 100 µL. Pour de plus amples détails, consultez *Pipetage des contrôles et échantillons* sous *Remarques concernant la procédure*.

Capture de cible

L'utilisation du système de capture de cible (Target Capture System) Gen-Probe est décrite dans le *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual).* Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

11. Couvrez les TTU avec des cartes de protection et agitez délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer.** Faites incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
12. Retirez le portoir du bain-marie et séchez le fond des tubes sur un matériau absorbant.
13. Vérifiez que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, remplacez-les par de nouvelles cartes de protection et fermez hermétiquement les TTU.
14. Vortexez le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Pour plus de détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*. Le portoir doit être vortexé dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
15. Sans retirer les cartes de protection, incubez le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
16. Placez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 5 à 10 minutes.
17. Amorcez la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage APTIMA dans la rampe de distribution. Pompez une quantité suffisante de liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les tubulures et que les dix têtes dispensent un flux régulier de liquide.
18. Mettez la pompe à vide en marche et débranchez la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. Vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du test pour les fuites.[1] L'obtention de ce chiffre peut prendre 15 secondes. Rebranchez la rampe d'aspiration et vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. N'éteignez pas la pompe à vide avant que toutes les étapes de la capture de cible soient terminées et que la tubulure de la rampe d'aspiration soit sèche.
19. Fixez fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirez la totalité du liquide en abaissant les embouts dans la première unité TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne pas maintenir les embouts en contact avec le fond des tubes.
20. Une fois l'aspiration terminée, éjectez les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencez les étapes d'aspiration pour les unités TTU restantes en utilisant un embout par échantillon.
21. Placez la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, versez 1,0 mL de solution de lavage APTIMA dans chacun des tubes de l'unité TTU.
22. Couvrez les tubes avec une carte de protection et retirez le portoir de la base magnétique TCS. Vortexez le portoir une fois sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon

1 Consultez la Fiche des spécifications de dépression du système de capture de cible située au verso du *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible* (Target Capture System Operator's Manual) ou contactez le Service technique.

multi-tubes). Pour plus de détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*.

23. Placez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirez tout le liquide comme dans les Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirez le portoir de la base magnétique du TCS et inspectez visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent des culots de billes magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettez le portoir sur la base magnétique TCS pendant 2 minutes et refaites l'aspiration pour cette unité TTU en prenant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

Remarque : *Si une bille de particule magnétique est visible une fois l'aspiration terminée, le tube peut être accepté. Si aucune bille n'est visible, l'échantillon doit être testé à nouveau. Si le même échantillon ne contient pas de bille de particule magnétique dans cette étape et lors d'une série ultérieure, ceci peut indiquer un problème lié à l'échantillon. Il est alors recommandé d'effectuer une nouvelle collecte de l'échantillon.*

D. Amplification

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/ Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

1. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 75 µL du réactif d'amplification GC reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels du portoir doivent maintenant être rouges.
2. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 200 µL de réactif huileux dans chaque tube réactionnel.
3. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
4. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 5 minutes.
5. Transférez le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incubez pendant 5 ± 2 minutes.
6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirez soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrez immédiatement les tubes avec une nouvelle carte de protection, retirez le portoir du bain-marie et mélangez les tubes réactionnels en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C pendant 60 ± 15 minutes.

E. Test de protection contre l'hybridation (HPA)

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/ Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

Le pipeteur à répétition utilisé pour l'hybridation et la sélection doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions*.

1. Hybridation
   a. Retirez le portoir du bain-marie et transférez-le dans la zone de test HPA. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL du réactif-sonde GC reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte jaune.
   b. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
   c. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 20 ± 5 minutes.

d. Retirez le portoir du bain-marie et laissez incuber à température ambiante pendant 5 ± 1 minutes.

2. Sélection

a. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte rouge.

b. Couvrez les tubes avec une carte de protection, vortexez pendant 10 secondes ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme, et incubez le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 1 minutes.

c. Retirez le portoir du bain-marie.

3. Détection

La détection doit être effectuée entre 18 °C et 28 °C.

a. Incubez le portoir entre 18 °C et 28 °C pendant 15 ± 3 minutes.

Remarque : *Cette plage de température est indispensable pour la performance du test.*

b. Pour utiliser le LEADER HC+ Luminometer et le logiciel de test APTIMA, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du luminomètre LEADER HC+ (LEADER HC+ Luminometer Operator's Manual)* ainsi qu'au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test APTIMA (APTIMA Assay Software Operator's Manual).*

c. Vérifiez que les volumes d'Auto Detect 1 et 2 sont suffisants pour effectuer les tests.

d. Préparez le LEADER HC+ Luminometer en plaçant une unité TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuez le protocole **Wash** (Lavage).

e. Chargez les unités TTU dans le luminomètre.

f. Connectez-vous à l'ordinateur. Cliquez sur **New Run** (nouvelle série), choisissez **APTIMA GC Assay Protocol** (protocole de test GC APTIMA) et entrez le nombre de tubes (contrôles et échantillons). Cliquez sur **Next** (suivant) pour commencer la série.

Remarque : *La série doit être complétée dans les 2 heures qui suivent la fin de l'incubation de l'étape de sélection.*

g. Préparez une solution de désactivation en mélangeant un volume équivalent d'hypochlorite de sodium dosé de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) et de tampon APTIMA pour solution de désactivation dans un récipient en plastique équipé d'un grand couvercle. Mettez une étiquette et inscrivez la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation reste stable pendant 4 semaines à température ambiante. Jetez la solution de désactivation une fois les 4 semaines écoulées ou après avoir désactivé 100 échantillons traités (si cela survient avant).

h. Après avoir retiré les unités TTU utilisées du luminomètre, placez-les dans le récipient de solution de désactivation. Laissez les unités TTU dans le récipient pendant 15 minutes avant de les jeter. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

Pour fonctionner correctement avec le logiciel de test APTIMA, le contrôle négatif pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », doit se trouver à la première position de la première unité TTU. Le contrôle positif pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », doit se trouver à la seconde position de la première unité TTU. Si ces contrôles sont placés dans la mauvaise position, la série échouera. Tout contrôle supplémentaire doit être entré en tant qu'échantillon de patient et l'opérateur veillera à ce qu'il soit acceptable. Le contrôle positif pour CT sert de contrôle négatif au test GC APTIMA.

B. Pipetage des contrôles et échantillons

Le volume de contrôle ou d'échantillon ajouté au tube réactionnel doit être de 400 µL ± 100 µL. Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube réactionnel pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de contrôle ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si le volume pipeté n'est pas suffisant, pipetez à nouveau le wTCR GC ainsi que le contrôle ou l'échantillon dans un nouveau tube réactionnel.

C. Réactifs

La solution de reconstitution de sonde peut se précipiter pendant la conservation. Si tel est le cas, chauffez la solution de reconstitution de sonde à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape, la solution de reconstitution de sonde peut être utilisée, même s'il reste des précipités de résidus. Une fois la remise en suspension obtenue, mélangez le flacon délicatement par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

D. Température

1. Les étapes de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection dépendent de la température. Il est donc impératif que les bains-marie soient maintenus dans des plages de température précises.
2. La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.
3. Les étapes de détection du test doivent être effectuées entre 18 °C et 28 °C.

E. Durée

Les réactions de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection sont toutes fonction du temps écoulé. Respectez les durées indiquées dans la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

F. Agitation au vortex

La qualité de l'agitation au vortex est importante pour assurer la bonne performance du test GC APTIMA. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne de manière circulaire à une vitesse capable de faire monter la solution dans la moitié supérieure du tube. Cette manipulation (agitation au vortex) est maintenue pendant une durée précise. Pour vortexer des réactions, réglez la vitesse du vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) sur le réglage le plus bas, fixez solidement le portoir en place et mettez en marche. Augmentez lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexez pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tournez la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) et de retirer le portoir. Les mélanges réactionnels ne doivent jamais toucher les cartes de protection.

G. Bains-marie

1. Le niveau d'eau des bains-marie doit avoir une profondeur de 3,8 à 5 cm (1,5 à 2,0 po), mesurée depuis le plateau de support métallique (fond du bain-marie) jusqu'à la surface de l'eau. Cette précaution permettra d'assurer un transfert de chaleur adéquat.
2. Pour éviter toute contamination croisée, les bains-marie doivent être réservés à une étape précise du test.

H. Décontamination

1. Surfaces et pipeteurs

   Les surfaces des paillasses et les pipeteurs du laboratoire doivent être décontaminés régulièrement avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Les solutions à base de chlore peuvent piquer le métal et le matériel. Rincez soigneusement le matériel passé à l'eau de javel pour éviter toute piqûre de corrosion.

2. Rampe d'aspiration TCS
   a. Placez une nouvelle TTC dans le portoir TTC. Mettez la pompe à vide en marche. Fixez la rampe d'aspiration aux embouts de la TTC. Aspirez entièrement la solution de lavage restant dans la cuve d'amorçage du poste de distribution de solution de lavage. (Placez la rampe de distribution de façon à ce qu'elle ne gêne pas.)
   b. Versez au moins 100 mL de solution d'hypochorite de sodium dosée de 0,5 % à 0,7 % (0,07 M à 0,1 M), ou, si vous le préférez, dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) dans la cuve d'amorçage. Aspirez la totalité de la solution au moyen de la rampe d'aspiration.
   c. Versez au moins 100 mL d'eau désionisée dans la cuve d'amorçage. Aspirez la totalité de l'eau au moyen de la rampe d'aspiration.
   d. Ejectez les embouts dans leur TTC d'origine.
   e. Laissez fonctionner la pompe d'aspiration jusqu'à ce que la tubulure de la rampe soit sèche pour éviter tout refoulement.
   f. Décontaminez les surfaces de la rampe d'aspiration comme expliqué sous *Unité TCS*.

3. Récipient à déchets TCS

   Retirez le flacon à déchets du système de capture de cible (Target Capture System) une fois par semaine ou lorsqu'il est rempli à 25 %.
   a. Éteignez la pompe à vide et laissez sa pression s'équilibrer.
   b. Débranchez les raccords à déconnexion rapide entre le flacon à déchets et le flacon de trop-plein, ainsi que le flacon à déchets et la rampe d'aspiration.
   c. Retirez le flacon à déchets du boîtier de piège à vide.
   d. Retirez le bouchon et ajoutez avec précaution 400 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) dans le flacon (ou 1 L si vous utilisez un flacon à déchets de 10 L).

      Remarque : *Cette manipulation peut être effectuée sous une hotte pour éviter de libérer des émanations dans le laboratoire.*

   e. Rebouchez le flacon à déchets et tournez délicatement le contenu jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.

f. Laissez le flacon à déchets reposer pendant 15 minutes, puis jetez le contenu (déchets).

g. Rincez le flacon à déchets à l'eau pour éliminer tout résidu éventuel.

h. Rebouchez le flacon vide et mettez-le dans le boîtier du piège à vide. Fixez le raccord à déconnexion rapide sur l'unité TCS. Jetez avec précaution les deux gants.

4. Unité TCS

   Essuyez les surfaces de l'unité TCS, la rampe d'aspiration et la surface des embouts d'éjection du tampon de lavage avec des serviettes en papier humidifiées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Faites suivre l'étape de javellisation par un rinçage à l'eau, puis séchez complètement les surfaces avec des serviettes en papier.

5. Portoirs

   Faites submerger les portoirs dans une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) en veillant à ce qu'ils soient recouverts par la solution d'hypochlorite de sodium. Maintenez les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincez soigneusement les portoirs à l'eau et placez-les sur un tampon absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie des portoirs, faites-les sécher debout, et non inversés.

I. Contamination des tests

1. L'introduction de substances contaminantes peut survenir si le protocole de test n'est pas rigoureusement respecté.
2. Les TTU doivent être décontaminées dans une solution de désactivation comme indiqué dans le paragraphe *Détection*. Ne pas réutiliser les unités TTU.
3. Effectuez une décontamination régulière du matériel et des surfaces de travail comme expliqué ci-dessus dans le paragraphe *Décontamination* sous *Remarques concernant la procédure*.
4. Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

J. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour les DTS Systems

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Introduisez immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.
7. Analysez l'écouvillon à l'aide du test GC APTIMA selon la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour GC (consultez *Interprétation du test — QC/Résultats patients*), il est possible que la surface soit contaminée et elle doit alors être décontaminée à la javel selon les recommandations indiquées à la section *Préparation du matériel* sous *Procédure de test avec les DTS Systems*.

Remarque : *Si l'on soupçonne le bain-marie d'être contaminé, il est possible de le tester en suivant la procédure de test d'échantillons d'urine et en ajoutant 2,0 mL d'eau dans un tube de transport d'échantillons d'urine.*

K. Dépannage

1. Des valeurs de contrôle positif faibles peuvent être dues à des températures incorrectes lors des différentes étapes du test, ou à un temps de sélection ayant dépassé la durée recommandée lors de l'étape de sélection.
2. Des bruits de fond élevés peuvent survenir si le temps de sélection de l'étape de sélection est écourté, la sélection de température est incorrecte, ou en cas de mélange insuffisant après l'ajout du réactif de sélection.
3. Si le contrôle négatif APTIMA pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC » est positif ou équivoque pour GC, consultez la section *Contamination des tests* sous *Remarques concernant la procédure* pour de plus amples informations.

TIGRIS DTS System

Les réactifs du test GC APTIMA sont énumérés ci-dessous pour le TIGRIS DTS System. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae

100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 303092)

2 x 50 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 302225)

Boîte réfrigérée pour test APTIMA Neisseria gonorrhoeae (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité	
		Kit de 100 tests	Kit de 2 x 50 tests
A	**Réactif d'amplification GC APTIMA** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon	2 flacons
E	**Réactif enzymatique APTIMA** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon	2 flacons
P	**Réactif-sonde GC APTIMA** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon	2 flacons
TCR-B	**Réactif de capture de cible B APTIMA** *Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,30 mL	2 x 0,143 mL
	Collets de reconstitution		6

Boîte non réfrigérée pour test APTIMA Neisseria gonorrhoeae (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité	
		Kit de 100 tests	Kit de 2 x 50 tests
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification GC APTIMA** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 11,9 mL	2 x 6,4 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique APTIMA** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 6,3 mL	2 x 3,3 mL
PR	**Solution de reconstitution de sonde GC APTIMA** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 x 15,2 mL	2 x 7,7 mL

Boîte non réfrigérée pour test APTIMA Neisseria gonorrhoeae (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité	
		Kit de 100 tests	**Kit de 2 x 50 tests**
S	**Réactif de sélection APTIMA** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 43,0 mL	2 x 20 mL
TCR	**Réactif de capture de cible GC APTIMA** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 26,0 mL	2 x 17 mL
	Collets de reconstitution	3	
	Pipettes de transfert		2
	Fiche de code-barres du lot de référence	1 fiche	1 fiche

Kit de contrôles APTIMA
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
PGC/ NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient la quantité de rRNA estimée équivalente à 50 cellules GC (250 fg/ test*).*	5 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient la quantité de rRNA estimée équivalente à 1 IFU de CT (5 fg/test*).*	5 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
TIGRIS DTS System	105118
Kit de solutions pour test APTIMA (APTIMA Assay Fluids Kit) *(solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA)*	302382
APTIMA Auto Detect Kit	301048
Kit de conservateur de liquide système APTIMA	302380
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)

		Référence
Kit pour séries TIGRIS DTS System comprenant		301191
Unités multi-tube (MTU)	*104772-02*	
Kit de sacs pour MTU/embouts usagés	*900907*	
Déflecteurs de déchets pour MTU	*900931*	
Couvre-déchets pour MTU	*105523*	
Kit de transfert d'échantillons APTIMA *à utiliser avec des échantillons dans la solution PreservCyt*		301154C
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA		301162
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon		301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins		301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins		105575
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)		—
Eau pour le TIGRIS DTS System *consultez le Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual) pour les caractéristiques techniques*		—
Gants jetables		—
Étalon SysCheck pour étalonnage		301078
Bouchons pénétrables APTIMA		105668
Bouchons de rechange non pénétrables		103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests		—
Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde	*CL0041 (100 bouchons)*	
Réactif TCR et réactif de sélection	*501604 (100 bouchons)*	
Bouchons de rechange pour les kits de 50 tests		—
Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde	*501603 (100 bouchons)*	
Réactif TCR et réactif de sélection	*501604 (100 bouchons)*	

Matériel optionnel

	Référence
Kit de contrôles APTIMA	301110
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101

Procédure de test pour le TIGRIS DTS System

Remarque : *Consultez le Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual) pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.*

A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/Préparation d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le TIGRIS DTS System.*

1. Pour reconstituer le réactif d'amplification GC, le réactif enzymatique et le réactif-sonde GC pour les kits de 100 tests et de 50 tests, mélangez la solution de reconstitution aux flacons de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
   c. Ouvrez le réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 2, Étape 1).
   d. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 2, Étape 2).
   f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laisser la solution s'écouler depuis le flacon en plastique dans le flacon en verre (Figure 2, Étape 3).
   g. Faites tournoyer délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 2, Étape 4).
   h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
   i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 6).
   j. Rebouchez le flacon.
      - Retirez et jetez l'étiquette supérieure sur les flacons pour 50 tests. Inscrivez les initiales de l'opérateur, la date de reconstitution ainsi que le numéro de lot du réactif lyophilisé sur l'étiquette restante (Figure 2, Étape 7).
      - Pour les flacons de 100 tests, inscrire les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution directement sur l'étiquette (voir Figure 3).

k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 8).

Avertissement : *Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du TIGRIS DTS System.*

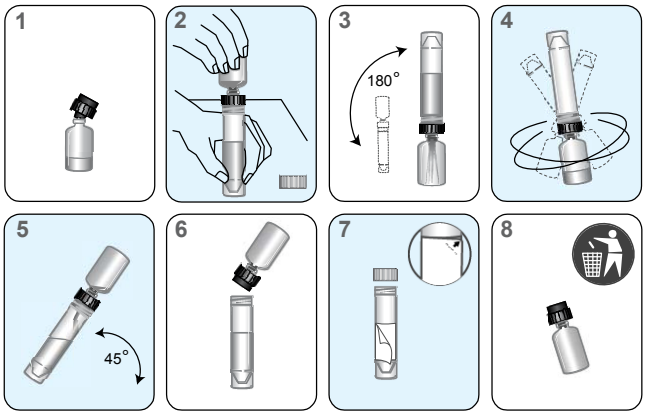

Figure 2. Procédure de reconstitution pour le TIGRIS DTS System

2. Préparez la solution de travail TCR GC (wTCR GC) pour le kit de 100 tests
   a. Associez les flacons de TCR GC et de TCR-B appropriés.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
   c. Ouvrez le flacon de TCR GC et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Retirez le bouchon du flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR GC. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
   e. Rebouchez le flacon de TCR GC et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.
   f. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
   g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparez la solution de travail TCR GC (wTCR GC) pour le kit de 50 tests.
   a. Associez les flacons de TCR GC et de TCR-B appropriés.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
   c. Ouvrez le flacon de TCR GC et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Ouvrez le flacon de TCR-B et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   e. Retirez la pipette de transfert de son emballage.
   f. Transférez environ 2 mL de TCR GC dans le flacon de TCR-B. **Ne pas** jeter la pipette de transfert à ce stade.
   g. Rebouchez le flacon de TCR-B et mélangez par retournements.
   h. Transférez la solution de wTCR GC de la bouteille TCR-B dans la bouteille TCR GC.
   i. Répétez l'étape h plusieurs fois jusqu'à ce que tout le mélange du flacon de TCR-B soit transféré de nouveau dans le flacon de TCR GC.

j. Rebouchez le flacon de TCR GC et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.

k. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette. Notez le numéro de lot du TCR-B.

l. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon. Jetez la pipette de transfert.

4. Préparation du réactif de sélection
   a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
   b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : *Mélanger à fond tous les réactifs par retournement en douceur avant de les charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)
1. Les réactifs de sonde GC, d'amplification GC et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde GC reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde GC peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde GC par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le TIGRIS DTS System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons
1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons**.
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
   a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
   b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
   c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
   d. L'absence d'un écouvillon dans l'APTIMA tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
   a. Si un tube d'échantillon contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
   b. Si le tube d'échantillon présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour vous assurer qu'il n'y a pas de liquide dans le bouchon.

c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.

d. Si un échantillon d'urine contient des précipités, chauffez l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

Remarque : *Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquots distincts provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipeter plus de 3 aliquots du tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.*

E. Préparation du système

Configurez le système et la liste de travail selon les instructions du *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System)* et de la section *Remarques concernant la procédure*.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Pour travailler correctement avec le logiciel de test APTIMA pour le TIGRIS DTS System, des contrôles avant et de fin sont nécessaires. Le Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC doit être placé dans la première position et l'avant dernière position d'une liste de travail. L'étiquette de ce contrôle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ». Le Contrôle positif GC / Contrôle négatif CT doit être placé dans la seconde position et la dernière position d'une liste de travail. Le contrôle porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ».
2. Chaque tube de contrôle APTIMA est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipeter plus d'une fois à partir du tube peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le TIGRIS DTS System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Introduisez immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour GC, consultez *Interprétation du test — QC/Résultats patients*. Pour des renseignements supplémentaires au sujet du contrôle de la contamination spécifiques au TIGRIS DTS System, consultez le *Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual).*

PANTHER System

Les réactifs du test GC APTIMA sont énumérés ci-dessous pour le PANTHER System. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae, 100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 302927)

Boîte réfrigérée pour test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification GC APTIMA** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique GC APTIMA** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde GC APTIMA** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
TCR-B	**Réactif de capture de cible B GC APTIMA** *Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,30 mL

Boîte non réfrigérée pour test APTIMA pour Neisseria gonorrhoeae (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification GC APTIMA** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 11,9 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique GC APTIMA** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 6,3 mL
PR	**Solution de reconstitution de sonde GC APTIMA** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 x 15,2 mL
S	**Réactif de sélection GC APTIMA** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 43,0 mL
TCR	**Réactif de capture de cible GC APTIMA** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche de code-barres du lot de référence	1 fiche

Kit de contrôles APTIMA
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
PGC/ NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 50 cellules de GC (250 fg/test*).*	5 x 1,7 mL
PCT/ NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).*	5 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
PANTHER System	303095
Kit de solutions pour test APTIMA (APTIMA Assay Fluids Kit) *(solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA)*	303014 (1000 tests)
APTIMA Auto Detect Kit	303013 (1000 tests)
Unités multi-tube (MTU)	104772-02
Kit de sacs à déchets PANTHER	902731
Couvre-déchets PANTHER	902714
Ou Kit pour séries PANTHER *Contient les MTU, les sacs à déchets, les solutions et auto detect*	303096 (5000 tests)
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons APTIMA *à utiliser avec des échantillons dans la solution PreservCyt*	301154C
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA	301162
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—

Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables APTIMA	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde	*CL0041 (100 bouchons)*
Réactif TCR et réactif de sélection	*501604 (100 bouchons)*

Matériel optionnel

	Référence
Kit de contrôles APTIMA	301110
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101

Procédure de test pour le PANTHER System

Remarque : *Consultez le Manuel de l'opérateur du PANTHER System (PANTHER System Operator's Manual) pour de plus amples informations sur la procédure du PANTHER System.*

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/Préparation d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le PANTHER System.*

1. Afin de reconstituer les réactifs d'amplification GC, enzymatiques GC et de sonde GC, mélangez la solution de reconstitution aux bouteilles de réactif lyophilisé. Si elles ont été réfrigérées, laissez les solutions de reconstitution parvenir à température ambiante avant l'emploi.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur identiques avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
   c. Ouvrez le réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 1).
   d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.

e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution sur la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans la bouteille (Figure 3, Étape 2).

f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille en plastique vers le flacon en verre (Figure 3, Étape 3).

g. Faites tournoyer en douceur la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tournoyer le flacon (Figure 3, Étape 4).

h. Attendez que le réactif lyophilisé soit dissout, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 3, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.

i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 6).

j. Rebouchez la bouteille en plastique. Notez les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, Étape 7).

k. Jeter le collet et le flacon (Figure 3, Étape 8).

Avertissement : *Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du PANTHER System.*

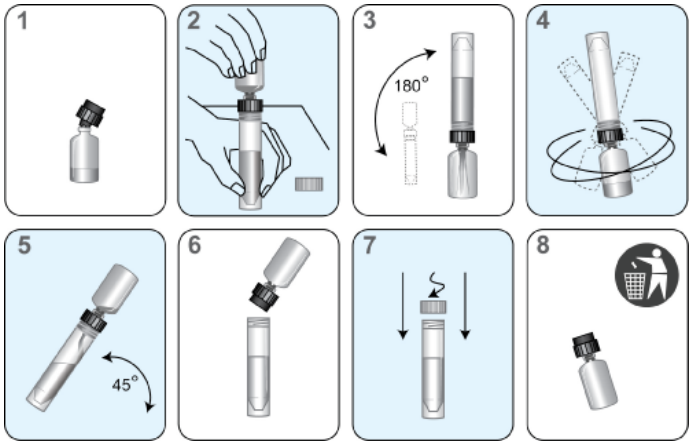

Figure 3. Procédure de reconstitution pour le PANTHER System

2. Préparez la solution de travail du réactif de capture de cible GC (working Target Capture Reagent, wTCR GC).
   a. Associez les flacons de TCR GC et de TCR-B appropriés.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
   c. Ouvrez le flacon de TCR GC et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Retirez le bouchon du flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR GC. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
   e. Rebouchez le flacon de TCR GC et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.
   f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
   g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.

3. Préparation du réactif de sélection.
   a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
   b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : *Mélangez à fond le réactif de sonde GC, d'amplification GC, enzymatique GC et de sélection GC par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)
   1. Les réactifs-sonde, d'amplification et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
   2. Si le réactif-sonde GC reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde GC peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde GC par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
   3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
   4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le PANTHER System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons
   1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
   2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
   3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
      a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
      b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
      c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
      d. L'absence d'un écouvillon dans l'APTIMA tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
   4. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
      a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
      b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
      c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
      d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

Remarque : *Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquots distincts provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipetage de plus de 3 aliquots d'un tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs de traitement.*

E. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *PANTHER System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du PANTHER System)* et les *Remarques concernant la procédure*. Veillez à ce que des portoirs à réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée soient utilisés.
2. Chargez les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Une paire de contrôles doit être utilisée pour permettre au logiciel de test APTIMA de fonctionner correctement. Sur le PANTHER System, les tubes du Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC et du Contrôle positif GC / Contrôle négatif CT peuvent être placés à n'importe quelle position sur le portoir ou dans n'importe quelle colonne du compartiment à échantillons. Le pipetage des échantillons des patients débutera lorsqu'une des deux conditions suivantes aura été remplie :
   a. Une paire de contrôles est en cours de traitement par le système.
   b. Des résultats validés ont été enregistrés sur le système pour les contrôles.
2. Dès que le pipetage des tubes des contrôles a été réalisé et que ces derniers sont en cours de traitement pour un kit de réactifs défini, l'analyse d'échantillons des patients peut se poursuivre pendant 24 heures avec ce même kit **sauf si :**
   a. Les contrôles sont invalides.
   b. Le kit de réactifs associé aux contrôles est enlevé du système.
   c. La durée de stabilité du kit de réactifs associé aux contrôles a été dépassée.
3. Chaque tube de contrôle APTIMA est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipetage répétées (plus d'une fois) à partir d'un même tube peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le PANTHER System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou non probants pour GC, reportez-vous à la section *Interprétation du test — QC/Résultats patients*. Pour des informations supplémentaires sur le contrôle de la contamination spécifiques au PANTHER System, contactez le Service technique de Gen-Probe.

Interprétation du test — QC/Résultats patients

A. Interprétation des tests

Les résultats des tests sont interprétés automatiquement par le logiciel de test APTIMA en utilisant le protocole GC. Un résultat de test peut être négatif, équivoque, positif ou invalide tel que déterminé par le nombre total de RLU dans l'étape de détection (voir ci-dessous). Un résultat de test peut être invalide si l'un des paramètres RLU se situe en dehors des seuils normalement prévus. Si les premiers résultats du test sont équivoques ou non valides, le test doit être refait.

Interprétation des tests	Total de RLU (x 1000)
Négatif	0* à < 50
Equivoque	50 à < 100
RLU faiblement positif[1,2,3]	100 à < 2000
Positif[1,2]	2000 à < 12 000
Non valide	0* ou > 12 000

* Un résultat RLU de zéro (0 x 1000) sur le rapport de la série correspond à une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems ou à 690 sur le TIGRIS DTS System ou le PANTHER System seront signalées comme étant non valides.

1 Conformément aux directives des CDC, « La réalisation de tests de routine supplémentaires doit être envisagée chez les personnes dont les tests de dépistage de CT ou GC se sont révélés positifs lorsque les informations sur le facteur de risque ou les sondages indiquent que la prévalence est faible, donnant lieu à une PPV plus basse (par ex., < 90 %). » Consultez les directives des CDC pour de plus amples détails sur les tests complémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif (1).

2 Consultez le tableau 3 pour les résultats de la distribution des RLU. La magnitude des RLU n'est pas indicative de la quantité d'organismes dans l'échantillon.

3 Dans la limite inférieure positive, les données suggèrent d'interpréter ces résultats positifs avec précaution, sachant qu'il est plus vraisemblable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Le contrôle négatif APTIMA pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC » et le contrôle positif APTIMA pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC/ CONTROL – CT NCT » servent de contrôle pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Selon les recommandations ou exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des contrôles supplémentaire pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le contrôle positif pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT » contient du rRNA GC non infectieux. Si des contrôles supplémentaires sont souhaités, ils peuvent être commandés sous forme de kit. La bonne préparation des échantillons se confirme visuellement par la présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon, ou par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine, ou encore par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons APTIMA pour les échantillons de frottis en milieu liquide.

Les contrôles positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Contrôle	Total de RLU (x 1000)	Résultat GC
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	0* et < 50	Négatif
Contrôle positif GC / contrôle négatif CT	≥ 100 et < 12 000	Positif

* Un résultat RLU de zéro (0 x 1000) sur le rapport de la série correspond à une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems ou à 690 sur le TIGRIS DTS System ou le PANTHER System seront signalées comme étant non valides.

1. Le logiciel de test APTIMA évalue automatiquement les contrôles selon les critères ci-dessus et indique que la série a PASS (Réussi) ou a FAIL (Échec) si les critères de contrôle de la série ne sont pas réunis.
2. Si le Run Status (État de la série) indique FAIL (Échec), tous les résultats des tests d'une même série sont invalides et ne doivent pas être pris en compte.
3. Chaque laboratoire devra mettre en place des procédures de contrôle appropriées pour répondre aux exigences des réglementations CLIA (paragraphe 493.1256).

Remarque : *Voir Dépannage ou appeler le Service technique de Gen-Probe pour toute assistance avec des contrôles hors normes sur les DTS Systems.*

4. L'un des paramètres du TIGRIS DTS System permet à chaque site de préciser une fréquence de « série encadrée de contrôles » où des jeux de contrôle supplémentaires peuvent être placés à des intervalles définis dans la liste de travail. Si ce paramètre est précisé, le TIGRIS DTS System exigera de placer un jeu de contrôles après le nombre défini d'échantillons de la série encadrée de contrôles. Le TIGRIS DTS System évalue automatiquement chacun des contrôles de la liste de travail en fonction des critères ci-dessus et invalide tous les échantillons dans la ou les séries encadrées de contrôles affectés si les critères de contrôle ne sont pas réunis. Consultez le *Manuel de l'opérateur du* TIGRIS DTS System *(TIGRIS DTS System Operator's Manual)* pour de plus amples détails.
5. Les contrôles négatifs peuvent se révéler inefficaces pour surveiller la contamination aléatoire de transfert. Voir *Performance analytique du TIGRIS DTS System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le TIGRIS DTS System. Voir *Performance analytique du PANTHER System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le PANTHER System.

C. Contrôle de la préparation des échantillons (facultatif)

Le contrôle négatif APTIMA pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC » et le contrôle positif APTIMA pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC/ CONTROL – CT NCT » servent de contrôle pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test et doivent être inclus dans chaque série du test. Si on le souhaite, des contrôles de la lyse cellulaire et de la stabilisation de RNA peuvent être testés conformément aux recommandations ou exigences des organismes d'accréditation concernés, ou encore selon les procédures de laboratoire individuelles. Les échantillons positifs connus peuvent servir de contrôle s'ils sont préparés et testés avec des échantillons inconnus. Les échantillons utilisés comme contrôles de la préparation doivent être conservés, manipulés et testés conformément à la notice de test. Les contrôles de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir *Résultats des tests de patients* sous *Interprétation du test — QC/Résultats patients*.

D. Résultats des tests de patients

1. Si les contrôles utilisés lors d'une série ne donnent pas les résultats attendus, les résultats des tests des échantillons des patients faisant partie de la même série ne doivent pas être validés.
2. Résultats des échantillons sur écouvillon, d'urine et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Voir *Remarques* ci-dessous.

a. Résultats initiaux

GC Pos.*	Positif pour rRNA GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de GC.
GC Equiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
Non valide	L'échantillon devra être testé à nouveau.

b. Résultats après ré-analyse

GC Pos.*	Positif pour le rRNA de GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de GC.
GC Equiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
Non valide	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.

* Les résultats des échantillons à valeur RLU faiblement positive sont inclus dans cette catégorie. Voir *Interprétation du test — QC/Résultats patients* ci-dessus.

Remarques

- Le premier résultat valide et non équivoque pour chaque analyte est celui qui doit être validé.
- Il est conseillé de considérer attentivement les données de performance pour interpréter les résultats du test GC APTIMA pour les individus asymptomatiques ou tout individu venant d'une population à faible prévalence d'infection.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection à GC étant donné que la qualité des résultats dépend de la collecte des échantillons, de l'absence d'inhibiteurs, et de l'obtention d'une quantité de rRNA suffisante pour être détectée. Les résultats des tests peuvent être affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique ou une confusion entre échantillons ou des concentrations de la cible inférieures au seuil de détection du test.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes cliniquement soupçonnées d'infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un frottis et un écouvillon endocervical sont collectés, l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt doit être collecté avant l'échantillon endocervical sur écouvillon.

Limites

A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.

B. Les effets de l'utilisation de tampons hygiéniques, de toilettes vaginales, et l'impact des variables de la collecte des échantillons n'ont pas été évalués pour la détection de GC.

C. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux n'interfère pas avec la détection de GC par le test GC APTIMA. Toutefois, pour assurer l'obtention d'échantillons endocervicaux corrects, l'excès de mucus doit être retiré.

D. L'échantillonnage des échantillons d'urine, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt n'est pas destiné à remplacer les examens cervicaux et les échantillons endocervicaux dans le diagnostic des infections urogénitales chez la femme. Les patientes peuvent souffrir de cervicites, urétrites, infections urinaires ou infections vaginales dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.

E. Le test GC APTIMA n'est pas prévu pour l'évaluation d'abus sexuels présumés ou à d'autres fins médico-légales. Pour les patients chez qui des résultats faussement positifs peuvent avoir un impact psychosocial néfaste, le CDC recommande d'effectuer un nouveau test avec une autre méthode (1).

F. La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte des échantillons. Étant donné que le système de transport utilisé pour ce test ne permet pas l'évaluation microscopique de la qualité des échantillons, il est nécessaire que les cliniciens soient formés aux techniques de collecte d'échantillons appropriées. Consultez la notice du kit de collecte d'échantillons APTIMA correspondante.

G. L'échec ou la réussite d'une thérapie ne peut être déterminé par le test GC APTIMA étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après une thérapie antimicrobienne appropriée.

H. Les résultats du test GC APTIMA doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.

I. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons, ou des niveaux de cible inférieurs au seuil de détection du test.

J. Le test GC APTIMA fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre la magnitude d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.

K. Concernant les études cliniques des échantillons vaginaux, endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, et les échantillons d'urine, les caractéristiques de performance de la détection de GC sont obtenues chez des populations à forte prévalence d'infection. Des résultats positifs chez des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que la probabilité d'obtenir des résultats faux positifs peut être supérieure à celle d'obtenir des résultats vrais positifs.

L. Concernant les études cliniques des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la performance du test GC APTIMA dans la détection de GC provient essentiellement de populations à faible prévalence d'infection. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que le nombre de résultats faussement positifs peut être supérieur à celui des résultats vraiment positifs.

M. La performance du kit de transfert d'échantillons APTIMA n'a pas été évaluée pour ce qui est de l'analyse d'un même échantillon de frottis en solution PreservCyt avant et après l'analyse par le système ThinPrep.

N. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt traités par des instruments autres que le processeur ThinPrep 2000 n'ont pas été évalués par rapport à leur utilisation dans des tests APTIMA.

O. Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué.

P. L'utilisation d'échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal est limitée aux centres de soins de santé où des conseils/un soutien sont offerts pour expliquer les procédures et précautions d'emploi.

Q. Le test GC APTIMA n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal à domicile.

R. La performance des échantillons sur écouvillon vaginal n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.

S. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas évaluée chez des adolescents de moins de 16 ans.

T. Le test des échantillons urétraux sur écouvillon de sujets masculins asymptomatiques n'est pas recommandé en raison du faible coefficient de prévision d'un résultat positif observé dans l'étude clinique.

U. La performance du TIGRIS DTS System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant, ou dans le cadre du processus d'installation et d'acceptation pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2240 mètres.

V. La performance du PANTHER System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2000 mètres.

W. Il n'existe aucune preuve de la dégradation des acides nucléiques dans la solution PreservCyt. Si un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt contient une faible quantité de matériel cellulaire de GC, il peut se produire une distribution irrégulière de ce matériel cellulaire. De même, lorsqu'on le compare à l'échantillonnage direct avec le milieu de transport d'échantillons APTIMA, le volume additionnel de la solution PreservCyt donne des dilutions plus importantes du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent affecter la capacité à détecter des petites quantités d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il peut être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.

X. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Résultats des études cliniques

Les caractéristiques de performance du test GC APTIMA ont été établies au cours de deux investigations cliniques réalisées en Amérique du Nord. La première investigation clinique a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC APTIMA en utilisant des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, et des échantillons d'urine masculins et féminins. Elle a aussi évalué la précision du test GC APTIMA dans des conditions de réalisation conformes aux directives NCCLS (12). La seconde investigation clinique a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC APTIMA en utilisant le milieu de transport PreservCyt (composant du ThinPrep 2000 System). Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt Pap ont été également évalués pour leur précision en laboratoire avec le test GC APTIMA.

Valeurs attendues pour les DTS Systems

Prévalence

La prévalence d'infections à GC dans les populations de patients dépend des facteurs de risque tels que l'âge, le sexe, la présence de symptômes, le type de clinique et la méthode de test. Un résumé de la prévalence de GC en Amérique du Nord, par type d'échantillon et selon les déterminations du test GC APTIMA figure dans les tableaux 1 et 1a pour deux investigations cliniques. Pour des informations sur les caractéristiques de performance de l'échantillon clinique, consultez la section *Étude clinique des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon et d'urine* et *Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt* sous *Performance clinique du test avec les DTS Systems*.

Tableau 1 : Prévalence de N. gonorrhoeae par site clinique et de manière globale selon les résultats obtenus avec le test GC APTIMA

	% (nbre positifs/nbre testés)											
Site	**MS**		**MU**		**FS**		**FU**		**PVS**		**CVS**	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	S.O.		S.O.		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	S.O.		S.O.		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Tous	16,2	(214/1318)	14,3	(189/1322)	5,9	(85/1452)	4,9	(72/1459)	5,8	(83/1434)	5,8	(84/1458)

MS = écouvillon urétral masculin ; **MU** = urine masculine ; **FS** = écouvillon endocervical féminin ; **FU** = urine féminine ; **PVS** = écouvillon vaginal collecté par la patiente ; **CVS** = écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 1a : Prévalence de N. gonorrhoeae par site clinique et de manière globale selon les les résultats obtenus avec le test GC APTIMA en utilisant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	% (nbre positifs/nbre testés)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Tous	1,0	(16/1647)

Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Les valeurs prédictives positives et négatives (PPV et NPV) estimées pour les différents taux de prévalence hypothétiques en utilisant le test GC APTIMA sont indiquées au tableau 2. Ces calculs sont basés sur la prévalence hypothétique d'une sensibilité et d'une spécificité générales calculées d'après l'état d'infection des patients. La sensibilité et spécificité générales pour GC étaient respectivement de 97,6 % et 99,3 % (tableau 2). Les PPV et NPV réelles pour les échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, et des échantillons d'urine masculins et féminins sont indiquées au tableau 6 pour chaque site clinique et de manière globale. Les PPV et NPV réelles des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt sont indiquées au tableau 6a.

Tableau 2 : Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Taux de prévalence hypothétique (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Distribution des RLU dans le test GC APTIMA

La figure 4 présente la distribution des RLU pour le test GC APTIMA pour les types d'échantillon suivants analysés lors de l'étude clinique : des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, et des échantillons d'urine masculins et féminins collectés par la patients provenant de patients symptomatiques ; et des échantillons endocervicaux et vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons vaginaux collectés par les patientes et des échantillons d'urine masculins et féminins provenant de patients asymptomatiques. Le tableau 3 résume la distribution des RLU pour la totalité des résultats positifs et la totalité des résultats négatifs, de même que les résultats faussement positifs et faussement négatifs concernant l'état d'infection des patients pour ces types d'échantillon. Parmi certains types d'échantillons, on note une tendance vers une proportion croissante de résultats vraiment positifs lorsque les valeurs RLU augmentent.

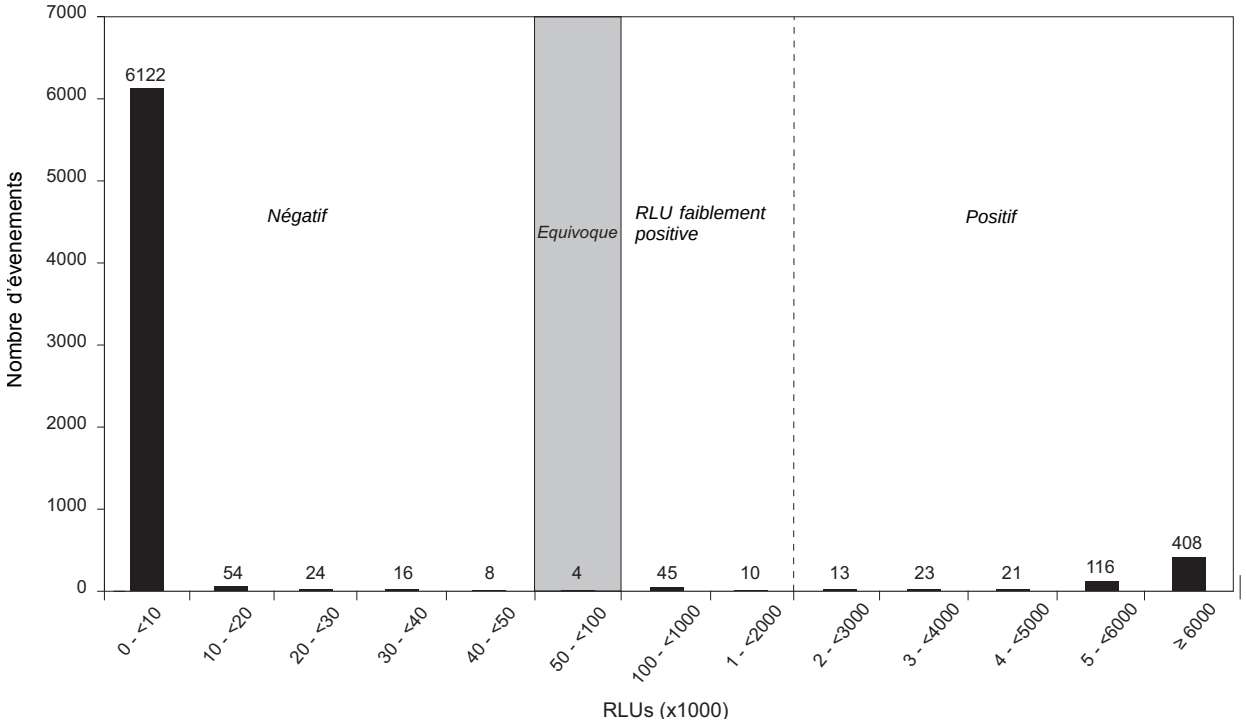

Figure 4. Fréquence de la distribution des RLU pour le test GC APTIMA

Tableau 3 : Distribution des RLU dans le test GC APTIMA

	RLU (x 1000)												
	0 - <10	**10 - <20**	**20 - <30**	**30 - <40**	**40 - <50**	**50 - <100**	**100 - <1000**	**1000 - <2000**	**2000 - <3000**	**3000 - <4000**	**4000 - <5000**	**5000 - <6000**	**≥ 6000**
Total de résultats positifs						**-**	**45**	**10**	**13**	**23**	**21**	**116**	**408**
Total de résultats faussement positifs						**-**	**35**	**6**	**2**	**4**	**0**	**3**	**0**
CVS						1	5	3	0	1	0	2	0
PVS						0	2	0	0	1	0	1	0
FS						2	12	1	0	0	0	0	0
MS						1	9	0	1	0	0	0	0
FU						0	2	0	0	1	0	0	0
MU						0	5	2	1	1	0	0	0
Total de résultats négatifs	**6122**	**54**	**24**	**16**	**8**	**-**							
Total de résultats faussement négatifs	**7**	**2**	**1**	**2**	**1**	**-**							
CVS	2	0	0	0	0	-							
PVS	0	0	0	0	0	-							
FS	0	0	0	1	1	-							
MS	0	1	0	0	0	-							
FU	3	1	1	1	0	-							
MU	2	0	0	0	0	-							

CVS = écouvillon vaginal collecté par un clinicien ; **PVS** = écouvillon vaginal collecté par la patiente (patientes asymptomatiques uniquement) ; **FS** = écouvillon endocervical féminin ; **MS** = écouvillon urétral masculin (patients symptomatiques uniquement) ; **FU** = urine féminine ; **MU** = urine masculine.

La colonne grisée indique une zone équivoque.

Performance clinique du test avec les DTS Systems

Consultez *Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System* après la section *Performance analytique des DTS Systems* pour la performance analytique spécifique au TIGRIS DTS System.

Étude clinique des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon et d'urine

Des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal et des échantillons d'urine masculins et féminins ont été collectés auprès de 2787 sujets masculins et féminins symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des cliniques de traitement des maladies sexuellement transmissibles (MST), ainsi que des centres pour adolescents et de planning familial dans huit sites cliniques géographiquement diversifiés en Amérique du Nord. Les sujets ont été classés symptomatiques si des symptômes tels que des pertes, dysuries et douleurs pelviennes ont été signalés par le sujet. Les sujets ont été classés comme asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme. Sur les 1392 sujets asymptomatiques enrôlés dans l'étude, 2 avaient moins de 16 ans, 237 entre 16 et 20 ans, 423 entre 21 et 25 ans, et 730 avaient plus de 25 ans. Sur les 1395 sujets symptomatiques participant à l'étude, 211 avaient entre 16 et 20 ans, 494 entre 21 et 25 ans, et 690 avaient plus de 25 ans.

Trois échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1322 sujets masculins éligibles. Cinq échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1465 sujets féminins éligibles. Chez les sujets masculins, deux écouvillons urétraux aléatoires ont été collectés, suivis d'un échantillon d'urine. Chez les sujets féminins, un échantillon d'urine a été collecté suivi par un échantillon collecté par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, un échantillon collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon vaginal, et deux échantillons endocervicaux aléatoires sur écouvillon. Les résultats du test GC et du test APTIMA COMBO 2 ont été générés pour les deux écouvillons vaginaux, un écouvillon endocervical, un écouvillon urétral mâle et un aliquot d'urine masculine et féminine. Les écouvillons endocervicaux et urétraux mâles ainsi que l'aliquot d'urine masculine et féminine restants ont été testés en utilisant un autre test NAAT du commerce. Les échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et les échantillons d'urine masculins et féminins testés avec le test APTIMA COMBO 2 et l'autre test NAAT du commerce ont été utilisés comme NAAT de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'enrôlement des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de performance ont été basés sur le nombre total d'échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins du test GC APTIMA comparés à un algorithme de l'état d'infection des patients pour chaque sexe. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par GC était basée sur les résultats des échantillons sur écouvillon ou d'urine du test APTIMA COMBO 2 disponible dans le commerce ainsi que de l'autre NAAT disponible dans le commerce. Les sujets étaient considérés infectés par GC si deux des quatre échantillons sur écouvillon et d'urine étaient positifs avec le test APTIMA COMBO 2 et l'autre NAAT de référence (un échantillon testant positif dans chaque NAAT). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats NAAT de référence étaient positifs. La culture n'a pas été utilisée comme test de référence.

Au total, 7653 résultats de test GC APTIMA ont été utilisés pour calculer la sensibilité et la spécificité. La sensibilité et la spécificité à GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées au tableau 4. Le tableau 6 indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC APTIMA comparé à l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et de manière globale. Les tableaux 7a - 7e résument le nombre de résultats obtenus pour des sujets symptomatiques et asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés à GC selon l'algorithme de l'état d'infection des patients.

Sur les 2787 sujets participant à l'étude, 15 d'entre eux avaient un état d'infection à GC inconnu. Les sujets ont été désignés comme ayant un état d'infection inconnu si des résultats incomplets empêchaient de déterminer de manière concluante leur état d'infection. Les résultats obtenus auprès de ces sujets n'ont pas été inclus dans les calculs de performance. Sur les 7704 résultats de test GC APTIMA, 22 échantillons (0,29 %) avaient initialement donné des résultats de test invalides ou équivoques. Après avoir testé de nouveau ces échantillons, 4 d'entre eux sont restés équivoques et ont été exclus des analyses. Les 18 échantillons restants ont produit des résultats de test valides après avoir été de nouveau testés et ont donc été utilisé dans les calculs de la performance clinique.

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité du test GC APTIMA comparées à l'état d'infection des patients par état des symptômes et dans l'ensemble pour les écouvillons urétraux mâles, les échantillons d'urine masculins, les écouvillons endocervicaux féminins, les échantillons d'urine féminins, les écouvillons vaginaux collectés par des patientes asymptomatiques et les écouvillons vaginaux collectés par des cliniciens

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)		Spécificité (IC à 95 %)	
Homme	Écouvillon	Symptomatique	575	171	10[a]	393	1	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)
	Urine	Symptomatique	576	171	4[b]	400	1	99,4	(96,8 - 100)	99,0	(97,5 - 99,7)
		Asymptomatique	745	9	5[c]	730	1	90,0	(55,5 - 99,7)	99,3	(98,4 - 99,8)
		Tous	1321	180	9[d]	1130	2	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)
Femme	Écouvillon	Symptomatique	805	52	8[e]	744	1	98,1	(89,9 - 100)	98,9	(97,9 - 99,5)
		Asymptomatique	635	20	5[f]	609	1	95,2	(76,2 - 99,9)	99,2	(98,1 - 99,7)
		Tous	1440	72	13[g]	1353	2	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)
	Urine	Symptomatique	810	48	2[h]	755	5	90,6	(79,3 - 96,9)	99,7	(99,0 - 100)
		Asymptomatique	639	21	1[i]	616	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,8	(99,1 - 100)
		Tous	1449	69	3[j]	1371	6	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	Asymptomatique	629	21	4[k]	604	0	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	Symptomatique	809	52	7[m]	749	1	98,1	(89,9 - 100)	99,1	(98,1 - 99,6)
		Asymptomatique	637	21	4[n]	611	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,3	(98,3 - 99,8)
		Tous	1446	73	11[o]	1360	2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)

TP = vrai positif ; **FP** = faux positif ; **TN** = vrai négatif ; **FN** = faux négatif.
Résultats pour GC obtenus avec le test APTIMA COMBO 2 : nbre de résultats positifs / nbre d'échantillons testés
a : 2/10 b : 1/4 c : 1/5 d : 2/9 e : 5/8 f : 2/5 g : 7/13 h : 1/2 i : 1/1 j : 2/3 k : 3/4 l : 8/11 m : 6/7 n : 3/4 o : 9/11.

Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation du milieu de transport PreservCyt (un composant du ThinPrep 2000 System) comme milieu alternatif pour les échantillons gynécologiques dans la détection de *N. gonorrhoeae* par le test GC APTIMA. Mille six-cent quarante-sept (1647) femmes symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des dispensaires et des cliniques pour femmes et pour MST ont été évaluées lors de l'étude clinique. Sur ces sujets, 1288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques (Tableau 7e). Les sujets ont été enrôlés dans des sites où la prévalence de GC s'échelonnait de 0,0 % à 5,0 % (Tableau 6a).

Deux échantillons ont été collectés pour chaque sujet éligible : un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt et un échantillon endocervical sur écouvillon. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été collectés au moyen d'une spatule/cytobrosse ou d'un dispositif d'échantillonnage cervical en brosse de type balai. La distribution des dispositifs d'échantillonnage cervical est résumée au tableau 5 par site de collecte d'échantillons et de manière globale.

Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités conformément au Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual) et à la notice du test du kit de transfert d'échantillons APTIMA. Après traitement de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avec le processus ThinPrep 2000, l'échantillon a été transféré dans le kit de transfert d'échantillons APTIMA avec le test GC APTIMA.

La sensibilité et la spécificité du test GC APTIMA avec les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à l'état d'infection des patients. L'algorithme comprenait les résultats du test APTIMA COMBO 2 et du test GC APTIMA pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon. Les deux NAAT de référence devaient être positifs pour établir l'infection d'un patient. Au moins un NAAT de référence devait être négatif pour établir que le patient n'était pas infecté. Le résultat équivoque obtenu avec un NAAT de référence a été considéré discordant avec le test d'investigation dans le calcul de la performance, et l'état d'infection du patient a donc été classé comme non infecté (n=1). Le tableau 7e résume la fréquence des résultats du test pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon testés avec le test APTIMA COMBO 2 et le test GC APTIMA.

Le tableau 5a indique les sensibilités et spécificités du test GC APTIMA par état des symptômes et de manière globale. La sensibilité générale était de 92,3 % (12/13). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les sensibilités étaient respectivement de 100 % (7/7) et 83,3 % (5/6). La spécificité générale était de 99,8 % (1630/1634). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les spécificités étaient respectivement de 99,4 % (350/352) et 99,8 % (1280/1282).

Le tableau 6a indique les sensibilités et spécificités du test GC APTIMA par site de collecte d'échantillons et de manière globale. Les sensibilités s'échelonnaient de 80,0 % à 100 %. Les spécificités s'échelonnaient de 99,0 % à 100 %.

Tableau 5 : Distribution du dispositif d'échantillonnage cervical utilisé pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Dispositif d'échantillonnage cervical utilisé	Site clinique de collecte						Total
	1	2	3	4	5	6	
Spatule/cytobrosse	0	124	475	287	57	364	1307
Dispositif endocervical de type balai	100	0	0	0	240	0	340

Tableau 5a : Sensibilité et spécificité du test GC APTIMA comparées à l'état d'infection des patients par état des symptômes et dans l'ensemble pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

État des symptômes	Résultats GC APTIMA de la solution PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
Symptomatique	Positif	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 – 100)	99,4 (350/352) (98,0 – 99,9)
	Négatif	0	0	0	350		
	Total	7	0	0	352		
Asymptomatique	Positif	5	0	1[1]	1	83,3 (5/6) (35,9 – 99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4 –100)
	Négatif	1	0	5	1275		
	Total	6	0	6	1276		
Tous	Positif	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)
	Négatif	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

[1]Un résultat discordant a été obtenu pour un échantillon : un résultat équivoque pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 et un résultat positif avec le test GC APTIMA.

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC APTIMA comparées à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les écouvillons urétraux mâles, les échantillons d'urine masculins, les écouvillons endocervicaux féminins, les échantillons d'urine féminins, les écouvillons vaginaux collectés par des patientes asymptomatiques et les écouvillons vaginaux collectés par des cliniciens

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)		Spécificité (IC à 95 %)		PPV (%)	NPV (%)
Homme	**Écouvillon**	**1**	145	49	0	96	0	33,8	100	(92,7 - 100)	100	(96,2 - 100)	100	100
		2	177	66	8	102	1	37,9	98,5	(92,0 - 100)	92,7	(86,2 - 96,8)	89,2	99,0
		3	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.		S.O.		S.O.	S.O.	S.O.
		4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.		S.O.		S.O.	S.O.	S.O.
		5	49	7	1	41	0	14,3	100	(59,0 - 100)	97,6	(87,4 - 99,9)	87,5	100
		6	150	37	1	112	0	24,7	100	(90,5 - 100)	99,1	(95,2 - 100)	97,4	100
		7	54	12	0	42	0	22,2	100	(73,5 - 100)	100	(91,6 - 100)	100	100
		8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.		S.O.		S.O.	S.O.	S.O.
		Tous	575	171	10	393	1	29,9	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)	94,5	99,7
	Urine	**1**	252	53	1	198	0	21,0	100	(93,3 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	98,1	100
		2	353	68	3	280	2	19,8	97,1	(90,1 - 99,7)	98,9	(96,9 - 99,8)	95,8	99,3
		3	4	0	0	4	0	0,0		S.O.	100	(39,8 - 100)	S.O.	100
		4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.		S.O.		S.O.	S.O.	S.O.
		5	200	8	3	189	0	4,0	100	(63,1 - 100)	98,4	(95,5 - 99,7)	72,7	100
		6	305	39	2	264	0	12,8	100	(91,0 - 100)	99,2	(97,3 - 99,9)	95,1	100
		7	207	12	0	195	0	5,8	100	(73,5 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.		S.O.		S.O.	S.O.	S.O.
		Tous	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)	95,2	99,8

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC APTIMA comparées à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les écouvillons urétraux mâles, les échantillons d'urine masculins, les écouvillons endocervicaux féminins, les échantillons d'urine féminins, les écouvillons vaginaux collectés par des patientes asymptomatiques et les écouvillons vaginaux collectés par des cliniciens (suite)

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)		Spécificité (IC à 95 %)		PPV (%)	NPV (%)
Femme	Écouvillon	1	226	12	2	212	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	29	3	164	1	15,2	96,7	(82,8 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,6	99,4
		3	114	4	1	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	99,1	(95,0 - 100)	80,0	100
		4	260	5	1	254	0	1,9	100	(47,8 - 100)	99,6	(97,8 - 100)	83,3	100
		5	199	2	1	196	0	1,0	100	(15,8 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	66,7	100
		6	294	19	5	269	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,2	(95,8 - 99,4)	79,2	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.		100	(96,4 - 100)	S.O.	100
		8	48	1	0	47	0	2,1	100	(2,5 - 100)	100	(92,5 - 100)	100	100
		Tous	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)	84,7	99,9
	Urine	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7	(61,5 - 99,8)	99,1	(96,7 - 99,9)	84,6	99,5
		2	198	30	0	167	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	100	(97,8 - 100)	100	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	265	5	0	260	0	1,9	100	(47,8 - 100)	100	(98,6 - 100)	100	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	296	16	1	275	4	6,8	80,0	(56,3 - 94,3)	99,6	(98,0 - 100)	94,1	98,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.		100	(96,4 - 100)	S.O.	100
		8	49	1	0	48	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,6 - 100)	100	100
		Tous	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)	95,8	99,6
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal (asymptomatique)	1	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8 - 100)	98,5	(91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0 - 100)	97,4	(86,5 - 99,9)	87,5	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100	(15,8 - 100)	100	(91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100	(2,5 - 100)	100	(97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100	(2,5 - 100)	100	(97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100	(47,8 - 100)	97,1	(90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	S.O.		100	(94,7 - 100)	S.O.	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	S.O.		100	(91,8 - 100)	S.O.	100
		Tous	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)	84,0	100
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	1	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8 - 100)	98,8	(96,6 - 99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,9	(96,8 - 99,8)	86,4	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.		100	(96,4 - 100)	S.O.	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,7 - 100)	100	100
		Tous	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)	86,9	99,9

TP = vrai positif ; **FP** = faux positif ; **TN** = vrai négatif ; **FN** = faux négatif.

Tableau 6a : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC APTIMA comparées à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les échantillons de de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	Résultats GC APTIMA de la solution PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positif	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 – 100)	100 (95/95) (96,2 – 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positif	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 – 100)	100 (123/123) (97,0 – 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positif	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 – 99,5)	100 (470/470) (99,2 – 100)	100	99,8
	Négatif	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positif	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,0 (283/286) (97,0 – 99,8)	25,0	100
	Négatif	0	0	3	280					
	Total	1	0	3	283					
5	Positif	0	0	0	0	0,0	S.O.	100 (297/297) (98,8 – 100)	S.O.	100
	Négatif	0	0	0	297					
	Total	0	0	0	297					
6	Positif	1	0	1[1]	0	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,7 (362/363) (98,5 – 100)	50,0	100
	Négatif	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
TOUS	Positif	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Négatif	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

S.O. = sans objet.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

[1]Un résultat discordant a été obtenu pour un échantillon : un résultat équivoque pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2 et un résultat positif avec le test GC APTIMA.

Table 7a : Résultats des écouvillons urétraux mâles collectés chez des sujets symptomatiques infectés ou non infectés par N. gonorrhoeae selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Test GC APTIMA	Total
	MS	MU	MS	MU	MS	
Infecté	+	+	+	+	+	164
Infecté	+	+	+	+	-	1
Infecté	+	+	+	-	+	3
Infecté	+	+	=	+	+	1
Infecté	+	-	+	+	+	2
Infecté	+	-	+	-	+	1
Non infecté	+	-	-	-	+	2
Non infecté	+	-	-	-	-	1
Non infecté	-	+	-	-	+	1
Non infecté	-	-	+	-	-	1
Non infecté	-	-	-	+	-	2
Non infecté	-	-	-	-	+	3
Non infecté	-	-	-	-	+	2
Non infecté	-	-	-	-	-	386
Non infecté	-	-	-	-	=	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	1
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1
Non infecté	=	-	-	-	+	2
Total						**576**

S.O. = échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (**=**) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse. **MS** = écouvillon uréthral mâle symptomatique ; **MU** = urine masculine.

Tableau 7b : Résultats des échantillons d'urine masculins collectés chez des sujets infectés ou non infectés par N. gonorrhoeae selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Test GC APTIMA	État des symptômes		Total
	MS	MU	MS	MU	MU	Sympt.	Asympt.	
Infecté	+	+	+	+	+	164	8	172
Infecté	+	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	-	+	3	1	4
Infecté	+	+	=	+	+	1	0	1
Infecté	+	-	+	+	+	2	0	2
Infecté	+	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	+	+	-	-	+	0	1	1
Non infecté	+	-	-	-	-	2	13	15
Non infecté	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infecté	-	-	-	-	-	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	0	3	3
Non infecté	-	-	-	-	-	386	691	1077
Non infecté	-	-	-	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	1	4	5
Non infecté	-	-	-	=	-	1	4	5
Non infecté	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infecté	-	=	-	-	-	0	1	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	=	-	-	-	-	2	6	8
Non infecté	=	-	-	-	-	0	2	2
Total						**576**	**745**	**1321**

Sympt. = symptomatique ; **Asympt**. = asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (**=**) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse. **MS** = écouvillon uréthral mâle ; **MU** = urine masculine.

Tableau 7c : Résultats des écouvillons endocervicaux féminins et des échantillons d'urine féminins chez des sujets infectés ou non infectés par N. gonorrhoeae selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Test GC APTIMA		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infecté	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infecté	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infecté	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infecté	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infecté	+	+	+	S.O.	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infecté	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infecté	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infecté	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infecté	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infecté	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infecté	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Non infecté	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infecté	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Non infecté	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	2	3	5
Non infecté	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	S.O.	1	1	2
Non infecté	S.O.	-	-	-	S.O.	-	5	4	9
Non infecté	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Total							**811**	**640**	**1451**

Sympt. = symptomatique ; **Asympt**. = asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (**=**) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse. **FS** = écouvillon endocervical féminin ; **FU** = urine féminine.

Tableau 7d : Résultats des écouvillons vaginaux chez des sujets infectés ou non infectés par N. gonorrhoeae selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	NAAT 1 (Test APTIMA COMBO 2)		NAAT 2		Test GC APTIMA		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infecté	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infecté	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infecté	+	+	+	+	S.O.	+	0	1	1
Infecté	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infecté	+	+	+	S.O.	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infecté	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infecté	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infecté	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infecté	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infecté	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Non infecté	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infecté	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	16	9	25
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	S.O.	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Non infecté	-	-	-	=	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	-	5	4	9
Non infecté	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Total							**811**	**640**	**1451**

Sympt. = symptomatique ; **Asympt.** = asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (**=**) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse. **FS** = écouvillon endocervical féminin ; **FU** = urine féminine ; **PVS** = écouvillon vaginal collecté par la patiente ; **CVS** = écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 7e : Résultats de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt provenant de patients infectés par N. gonorrhoeae

État d'infection du patient	Écouvillon endocervical		État des symptômes	
	Test APTIMA COMBO 2	Test GC APTIMA	Symptomatique	Asymptomatique
Infecté	Positif	Positif	7	6
Non infecté	Négatif	Négatif	352	1276
Non infecté	Négatif	Positif	0	5
Non infecté	Equivoque	Positif	0	1
Total			**359**	**1288**

Distribution des RLU des contrôles APTIMA

La distribution des RLU pour le Contrôle positif GC / Contrôle négatif CT APTIMA et le Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC APTIMA pour toutes les séries de test GC APTIMA effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée au tableau 8.

Tableau 8 : Distribution des RLU des contrôles APTIMA lors des études cliniques d'échantillons comprenant les études des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Contrôle	Statistiques	RLU (x 1000)	
		Étude clinique des échantillons sur écouvillon et d'urine	Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt
Contrôle positif GC / contrôle négatif CT	N	193	218
	Moyenne	5048	4561
	SD	1071	1295
	Maximum	6765	6791
	75ème centile	5763	5450
	Médiane	5175	4859
	25ème centile	4645	3804
	Minimum	229	158
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	N	193	218
	Moyenne	2,15	2,60
	SD	2,20	2,80
	Maximum	20	29
	75ème centile	2	3
	Médiane	2	2
	25ème centile	1	2
	Minimum	0	1

Étude de précision

L'étude de précision du test GC APTIMA (c-à-d., reproductibilité) a été évaluée dans deux sites cliniques externes et chez Gen-Probe. L'étude de précision du test GC APTIMA a été évaluée sur trois lots de kit de test GC APTIMA, trois sites d'études, six opérateurs et 108 séries de test GC APTIMA. Deux opérateurs dans chacun des trois sites de test ont effectué un total de six séries de test GC APTIMA par lot de kit pour un total de 36 séries par lot de kit. Chaque série était composée d'un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2433 fg/test de rRNA GC. La reproductibilité du test a été établie en utilisant un milieu de transport des écouvillons enrichi avec rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée. Le Tableau 9 indique les données RLU de précision en termes de Moyenne, d'Ecart-type (SD), de Coefficient de variation (CV) et de pourcentage de concordance avec les résultats attendus pour les calculs de variabilité entre sites, entre lots, entre opérateurs, entre séries et dans une même série.

Tableau 9 : Données de précision du test GC APTIMA en utilisant un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2433 fg/test de rRNA GC

Concentration	N	Moyenne RLU (x 1000)	% Concord.	Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'une série à l'autre	
				SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)
Nég. (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	S.O.	0	S.O.	0	S.O.	4,3	S.O.	0	S.O.
Faible (608-625 fg/mL)	324	5574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Méd. (6082 fg/mL)	108	6502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Élevé (12 500 fg/mL)	324	6786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SD = écart-type ; **CV%** = pourcentage du coefficient de variation ; **% Concord.** = pourcentage de concordance. **S.O.** = ne s'applique pas pour un analyte négatif.

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Si tel est le cas, la variabilité telle que mesurée avec SD et %CV est réglée sur zéro (12).

La précision dans un même laboratoire pour un échantillon de frottis en milieude liquide PreservCyt avec le test GC APTIMA a été déterminée en ensemençant les flacons de PreservCyt avec 20 CFU de GC par flacon (0,1 CFU par réaction) et 100 CFU de GC par flacon (0,5 CFU par réaction). Les flacons contenant 10 000 CFU de GC CFU par flacon (50 CFU par réaction) et les flacons de PreservCyt non ensemencés ont été testés comme contrôles positifs et négatifs. Dix flacons ensemencés à différents taux de CFU et dix flacons non ensemencés ont été divisés entre deux opérateurs. Les opérateurs ont vortexé les flacons, puis transféré 14 aliquots (de 1,0 mL chacun) par flacon dans 14 tubes de transfert APTIMA, conformément à la notice du test du kit de transfert d'échantillons APTIMA. Les opérateurs ne connaissaient pas les titres des échantillons. Chacun des échantillons frottis-STM obtenu a été testé une fois avec le test GC APTIMA. Au total, cinq séries ont été effectuées sur une période de cinq jours et 140 résultats ont été obtenus pour les taux de CFU de 0,1 ; 0,5 et 50. 136 résultats étaient valides et 4 invalides pour le panel de contrôle négatif. Les résultats invalides étaient dus au mauvais placement d'une TTU dans le Leader HC+. Les résultats sont résumés au Tableau 10.

Tableau 10 : Données de précision du test GC APTIMA dans un même laboratoire pour PreservCyt en utilisant un panel de précision de 4 membres contenant entre 0 et 500 cellules GC de CFU/mL

Membre du panel	CFU/mL PreservCyt	CFU/ série	n	Con-cordant	% Con-cord.	Moy-enne RLU (x 1000)	Pour un même opérateur		D'un jour à l'autre		D'un opérateur à l'autre		Total	
							SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
A	1	0,1	140	39	27,9	313,7	758,3	241,7	132,5	42,2	0,0	0,0	769,8	245,4
B	5	0,5	140	113	80,7	1211,1	1031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5636,8	220,7	3,9	135,7	2,4	0,0	0,0	259,1	4,6
D	0	0	136*	136	100	1,2	0,5	S.O.	0	S.O.	0,3	S.O.	0,6	S.O.

* Il y a eu quatre résultats invalides dus au mauvais placement d'une TTU dans le Leader HC+.

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Si tel est le cas, la variabilité telle que mesurée avec SD et %CV est réglée sur zéro (12). S.O. = sans objet pour les membres négatifs du panel. Opérateur = Série. Les échantillons offrant des résultats discordants ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Performance analytique des DTS Systems

Consultez la section *Performance analytique du TIGRIS DTS System* après le chapitre *Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System* pour la performance analytique spécifique au TIGRIS DTS System.

Consultez la section *Performance analytique du PANTHER System* pour la performance analytique spécifique au PANTHER System.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique à *N. gonorrhoeae* (seuil de détection) a été déterminée en comparant directement les dilutions de 51 isolats cliniques différents en culture cellulaire et avec le test GC APTIMA. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est de 50 CFU/test (362 CFU/écouvillon, 250 CFU/mL d'urine, et 487,5 CFU/mL en milieu PreservCyt).

Spécificité analytique

Un total de 154 isolats de culture a été évalué à l'aide du test GC APTIMA. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un croisement phylogénétique d'organismes. Les organismes testés comprenaient des bactéries, champignons, levures, parasites et virus. Tous les organismes, à l'exception de *C. psittaci, C. pneumoniae, U. urealyticum* et les virus ont été testés à 1,0 x 10^6 cellules/test dans le milieu de transport d'urine KOVA-Trol et 60 organismes l'ont été dans le milieu de transport d'écouvillons. Les organismes Chlamydia et Neisseria ont été testés dans le milieu PreservCyt. *C. psittaci* VR601 a été testé à 8,0 x 10^4 cellules/test et *C. psittaci* VR125 à 1,0 x 10^5 cellules/test. *C. pneumoniae* a été testé à 4,0 x 10^3 cellules/test et *U. urealyticum* à 6,7 x 10^6 cellules/test. La présence de virus a été déterminée de la manière suivante : (a) virus Herpes simplex I : 2,5 x 10^4 $TCID_{50}$/test, (b) virus Herpes simplex II : 6,0 x 10^4 $TCID_{50}$/test, (c) papillomavirus humain 16 : 2,9 x 10^6 copies de DNA/test et (d) cytomégalovirus : 4,8 x 10^5 cellules/test. La liste des organismes testés est indiquée au Tableau 11.

Tableau 11 : Spécificité analytique

Organisme	Organisme	Organisme
Achromobacter xerosis	*Escherichia coli*	*Neisseria mucosa (3)*
Acinetobacter calcoaceticus	*Flavobacterium meningosepticum*	*Neisseria sicca (3)*
Acinetobacter lwoffi	*Fusobacterium nucleatum*	*Neisseria subflava (14)*
Actinomyces israelii	*Gardnerella vaginalis*	*Neisseria perflava*
Actinomyces pyogenes	*Gemella haemolysans*	*Neisseria polysaccharea*
Aerococcus viridans	*Haemophilus ducreyi*	*Paracoccus denitrificans*
Aeromonas hydrophila	*Haemophilus influenzae*	*Peptostreptococcus anaerobius*
Agrobacterium radiobacter	Virus de l'herpès simplex I	*Peptostreptococcus productus*
Alcaligenes faecalis	Virus de l'herpès simplex II	*Plesiomonas shigelloides*
Bacillus subtilis	Papillomavirus 16	*Propionibacterium acnes*
Bacteriodes fragilis	*Kingella dentrificans*	*Proteus mirabilis*
Bacteriodes ureolyticus	Kingella kingae	*Proteus vulgaris*
Bifidobacterium adolescentis	*Klebsiella oxytoca*	*Providencia stuartii*
Bifidobacterium brevi	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*
Branhamella catarrhalis	*Lactobacillus acidophilus*	*Pseudomonas fluorescens*
Brevibacterium linens	*Lactobacillus brevis*	*Pseudomonas putida*
Campylobacter jejuni	*Lactobacillus jensonii*	*Rahnella aquatilis*
Candida albicans	*Lactobacillus lactis*	*Rhodospirillum rubrum*
Candida glabrata	*Legionella pneumophila (2)*	*Saccharomyces cerevisiae*
Candida parapsilosis	*Leuconostoc paramensenteroides*	*Salmonella minnesota*
Candida tropicalis	*Listeria monocytogenes*	*Salmonella typhimurium*
Chlamydia pneumoniae	*Micrococcus luteus*	*Serratia marcescens*
Chlamydia psittaci (2)	*Moraxella lacunata*	*Staphylococcus saprophyticus*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella osloensis*	*Staphylococcus aureus*
Citrobacter freundii	*Morganella morganii*	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium perfringens	*Mycobacterium smegmatis*	*Streptococcus agalactiae*
Corynebacterium genitalium	*Mycoplasma genitalium*	*Streptococcus bovis*
Corynebacterium xerosis	*Mycoplasma hominis*	*Streptococcus mitis*
Cryptococcus neoformans	*N. meningitidis Sérogroupe A*	*Streptococcus mutans*
Cytomégalovirus	*N. meningitidis Sérogroupe B*	*Streptococcus pneumoniae*
Deinococcus radiodurans	*N. meningitidis Sérogroupe C (4)*	*Streptococcus pyogenes*
Derxia gummosa	*N. meningitidis Sérogroupe D*	*Streptococcus salivarius*
Eikenella corrodens	*N. meningitidis Sérogroupe Y*	*Streptococcus sanguis*
Enterobacter aerogenes	*N. meningitidis Sérogroupe W135*	*Streptomyces griseinus*
Enterobacter cloacae	*Neisseria cinerea (4)*	*Trichomonas vaginalis*
Entercoccus avium	*Neisseria dentrificans*	*Ureaplasma urealyticum*
Entercoccus faecalis	*Neisseria elongata (3)*	*Vibrio parahaemolyticus*
Entercoccus faecium	*Neisseria flava*	*Yersinia enterocolitica*
Erwinia herbicola	*Neisseria flavescens (2)*	
Erysipelothrix rhusiopathiae	*Neisseria lactamica (9)*	

(n) = nombre de souches testées.

Tous les organismes testés ont donné un résultat négatif avec le test GC APTIMA.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'écouvillon et de solution PreservCyt : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, spray intime et leucocytes (1,0 x 10^6 cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'urine : sang 30 %, analytes d'urine, protéines, glucose, cétones, bilirubine, nitrates, urobilinogène, pH 4 (acide), pH 9 (alcalin), leucocytes (1,0 x 10^6 cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène, aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées pour une interférence éventuelle au test en l'absence et en présence de GC pour un rRNA estimé équivalent à 50 cellules/test de GC (250 fg/test). Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Il n'a été relevé aucune interférence avec l'ensemble des substances testées. Aucun inhibiteur d'amplification n'a été observé dans le test GC APTIMA.

Récupération

Escherichia coli, Gardnerella vaginalis, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus,* et *Staphylococcus epidermidis* (1,0 x 10^8 cellules/test) ont été ajoutés aux échantillons contenant l'équivalent rRNA d'environ 50 cellules de GC (250 fg). Ces ajouts n'ont pas interféré avec l'amplification ou la détection de rRNA GC en utilisant le test GC APTIMA.

Études de la stabilité des échantillons

A. Échantillons sur écouvillon et d'urine

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons endocervicaux, urétraux et vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon ont été générées avec des échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Les échantillons groupés ont été enrichis avec GC à une concentration finale de 50 CFU par réaction. Les échantillons enrichis ont été maintenus à -70 °C, -20 °C, 4 °C, et 30 °C. Ces échantillons ont été testés en duplicata aux jours 0, 20, 77 et 117. Toutes les conditions de test étaient positives pour GC pour toutes les durées et températures.

Les données destinés à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été générées avec des échantillons d'urine féminins et masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont été enrichis avec GC à une concentration finale de 100 CFU par réaction. Les échantillons d'urine enrichis ont été maintenus à 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au milieu de transport d'urine (urine transport media, UTM). Les échantillons UTM ont été maintenus à 4 °C et 30 °C et testés en triple aux jours 1, 14, 32 et 35. Les échantillons UTM ont également été conservés à -20 °C et -70 °C et testés en triple aux jours 1, 35 et 109. Tous les réplicats étaient positifs pour GC avec les échantillons UTM maintenus à 4 °C et -70 °C. Lorsque les échantillons UTM ont été maintenus à 30 °C, 94 % des réplicats ont été positifs pour GC au jour 35. Lorsque les échantillons UTM ont été maintenus à -20 °C, 98 % des réplicats ont été positifs pour GC au jour 109.

B. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Les données destinées à confirmer les conditions d'expédition et de conservation recommandées pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été générées à partir d'échantillons de frottis liquides traités et non traités. Pour les échantillons non traités, quatre pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été testés après avoir été conservés dans le flacon Cytyc pour solutions de

PreservCyt. Chaque pool d'échantillon a été ensemencé avec 50 à 100 CFU de GC/test, maintenu à 2 °C, 10 °C, et 30 °C, puis testé d'après la base de référence et aux jours 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 et 36. Tous les échantillons ensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

Pour les échantillons traités, quatre pools d'échantillons de la solution PreservCyt ont été utilisés pour déterminer la stabilité des échantillons traités à 2 °C et 30 °C. Chaque pool d'échantillon négatif a été ensemencé avec 50 à 100 CFU de GC/test, puis testé d'après la base de référence. Avant le traitement, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été conservés à 30 °C pendant sept (7) jours pour simuler le laps de temps entre la collecte des échantillons, le traitement et l'expédition des frottis dans un laboratoire de tests microbiologiques. Après sept jours à 30 °C, des aliquots de 1 mL de chaque pool ont été transférés dans un tube de transfert d'échantillons APTIMA et testées d'après la base de référence avant d'être placés à 2 °C, 10 °C, et 30 °C. Les échantillons traités ont été testés après 17 jours de conservation à 30 °C et 36 jours de conservation entre 2 °C et 10 °C. Tous les échantillons ensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer des températures de conservation plus longues ont été générées à partir de quatre pools d'échantillons négatifs traités avec la solution PreservCyt et testés à des températures inférieures à zéro. Chaque pool a été ensemencé avec de 50 à 100 CFU de GC/test, puis testé d'après la base de référence. Chaque pool a tout d'abord été placé à 30 °C pendant 14 jours, puis conservé à -20 °C ou -70 °C sur 106 jours. Tous les échantillons ensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

C. Etude de stabilité supplémentaire des échantillons congelés (à -20 °C)

Les données destinées à valider les conditions de conservation à -20 °C préconisées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, d'urine féminins et masculins, et de frottis en milieu liquide PreservCyt, ont été obtenues à l'aide de 90 échantillons pour chaque type ayant produit un résultat négatif. Parmi ces échantillons, 30 d'entre eux ont été ensemencés avec GC à un taux de 50 CFU par réaction, 30 échantillons ont été ensemencés à un taux de 5 CFU, et 30 échantillons n'ont pas été ensemencés. Les échantillons ont été conservés à -20 °C et puis analysés au jours 0, 200 et 400. Tous les échantillons ensemencés ont réuni les critères d'acceptation, à savoir une concordance supérieure à 95 % concernant les résultats attendus.

Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System

Concordance avec le TIGRIS DTS System

La concordance entre les résultats du test GC APTIMA générés par le TIGRIS DTS System entièrement automatique et les DTS Systems semi-automatiques a été évaluée en testant les échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chacun des échantillons cliniques a été testé individuellement avec le test GC APTIMA sur le TIGRIS DTS System et les DTS Systems chez Gen-Probe. L'ordre des tests n'était pas aléatoire. Les échantillons identifiés pour l'inclusion ont été testés avec le TIGRIS DTS System et suivis de tests sur les DTS Systems.

Étude de la concordance des échantillons cliniques endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt

Des sujets masculins et féminins se rendant dans des cliniques pour MST, des centres de planning familial et des gynécologues/obstétriciens de huit sites géographiquement divers avec des prévalences d'infection à GC s'échelonnant de faibles à élevées ont contribué aux échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les échantillons ont été transférés directement chez Gen-Probe pour être testés. Chez Gen-Probe, les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon et d'urine masculins et féminins ont d'abord été analysés avec le test APTIMA COMBO 2 sur le TIGRIS DTS System. Les échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été analysés avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems. Les échantillons dont les résultats définitifs étaient invalides ou équivoques n'ont pas été retenus pour l'étude de la concordance des échantillons cliniques GC APTIMA.

Cent vingt-neuf échantillons d'écouvillons féminins (70 endocervicaux et 59 vaginaux), 133 d'écouvillons urétraux mâles, 72 d'urine féminins, 130 d'urine masculins, et 51 de frottis en milieu liquide PreservCyt avec des résultats positifs et négatifs au test GC APTIMA COMBO 2 ont été sélectionnés pour des tests comparatifs entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems avec le test GC APTIMA. La majorité des échantillons (88 échantillons d'écouvillons féminins, 93 d'écouvillons masculins, 47 d'urine féminins, 70 d'urine masculins, et 34 de frottis en milieu PreservCyt) figurant dans les tests comparatifs provenaient d'individus symptomatiques. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques ont été testés à nouveau en utilisant le même système que celui sur lequel les résultats ont été générés. Trois échantillons d'urine féminin, 1 vaginal sur écouvillon et 1 urétral mâle sur écouvillon qui avaient donné initialement des résultats équivoques sur le DTS Systems ont tous donné des résultats valides après un nouveau test. Un échantillon d'urine masculin et 1 échantillon d'urine féminin qui avaient donné initialement des résultats équivoques sur le TIGRIS DTS System ont donné des résultats valides après un nouveau test.

Le tableau 12 montre les concordances positives, négatives et globales pour tous les résultats appariés de chaque type d'échantillon par état symptomatique. Bien que les échantillons sur écouvillon féminins (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés) ne soient pas équilibrés par rapport aux échantillons positifs et négatifs des sujets symptomatiques, la concordance globale chez les sujets symptomatiques était de 100 %, de 97,6 % (40/41) chez les sujets asymptomatiques, et la concordance globale pour 'tous' (symptomatiques et asymptomatiques combinés) était de 99,2 % (128/129). Concernant les échantillons urétraux mâles sur écouvillon, la concordance globale pour les sujets

symptomatiques, asymptomatiques et 'tous' était de 100 %. Concernant les échantillons d'urine féminins, la concordance globale pour les sujets symptomatiques était de 100 %, de 96,0 % (24/25) pour les sujets asymptomatiques, et de 98,6 % (71/72) pour 'tous'.

Concernant les échantillons d'urine masculins, la concordance globale pour les sujets symptomatiques était de 98,6 % (69/70), de 100 % pour les sujets asymptomatiques, et de 99,2 % (129/130) pour 'tous'. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la concordance globale pour les sujets symptomatiques, asymptomatiques et 'tous' était de 100 %. En raison du nombre relativement plus petit d'échantillons de sujets asymptomatiques, ces conclusions peuvent ne pas s'étendre aux tests du TIGRIS DTS System pour le test GC APTIMA avec les échantillons de sujets asymptomatiques.

Se référer au tableau 4 pour les estimations de la performance du test GC APTIMA concernant les échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, et d'urine masculins et féminins et au tableau 5a pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique pour le TIGRIS DTS System avec les échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, et d'urine masculins et féminins et de frottis en milieu liquide PreservCyt devraient être similaires compte-tenu des résultats concordants.

Tableau 12 : Étude de la concordance des échantillons cliniques : concordances positives, négatives et globales par état de symptômes

État des symptômes	Échantillon	Sexe	n	DTS+ TIGRIS+	DTS+ TIGRIS-	DTS- TIGRIS+	DTS- TIGRIS-	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance globale (IC à 95 %)
Sympt.	Écouvillon	Femme*	88	55	0	0	33	100 (93,5-100)	100 (89,4-100)	100 (95,9-100)
		Homme	93	66	0	0	27	100 (94,6-100)	100 (87,2-100)	100 (96,1-100)
	Urine	Femme	47	24	0	0	23	100 (85,8-100)	100 (85,2-100)	100 (92,5-100)
		Homme	70	60	1	0	9	98,4 (91,2-100)	100 (66,4-100)	98,6 (92,3-100)
	PreservCyt	Femme	34	28	0	0	6	100 (87,7-100)	100 (54,1-100)	100 (89,7-100)
Asympt.	Écouvillon	Femme*	41	23	0	1[1]	17	100 (85,2-100)	94,4 (72,7-99,9)	97,6 (87,1-99,9)
		Homme	40	7	0	0	33	100 (59,0-100)	100 (89,4-100)	100 (91,2-100)
	Urine	Femme	25	9	0	1	15	100 (66,4-100)	93,8 (69,8-99,8)	96,0 (79,6-99,9)
		Homme	60	5	0	0	55	100 (47,8-100)	100 (93,5-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Femme	17	12	0	0	5	100 (73,5-100)	100 (47,8-100)	100 (80,5-100)
Tous	Écouvillon	Femme*	129	78	0	1[1]	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)	99,2 (95,8-100)
		Homme	133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
	Urine	Femme	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Homme	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt	Femme	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

"+" indique un résultat positif, "-" un résultat négatif, IC = intervalle de confiance.

*Échantillons endocervicaux et vaginaux sur écouvillon combinés.

[1]Un résultat discordant pour les échantillons vaginaux sur écouvillon.

Étude de précision

Les effets de plusieurs facteurs sur la variabilité de la performance du test GC APTIMA sur le TIGRIS DTS System ont été évalués en utilisant des panels de reproductibilité MST constitués de 12 membres. Les membres des panels contenaient de 0 à 250 000 fg de rRNA GC /test. Le panel comportait des membres avec des concentrations de CT d'une sensibilité analytique revendiquée de 250 fg de rRNA GC /test.

Les panels ont été testés dans l'un des sites de test externes et chez Gen-Probe en utilisant deux lots de réactifs de test GC APTIMA. Chez Gen-Probe, deux opérateurs ont effectué chacun 3 listes de travail valides par lot de réactifs sur chacun des 2 instruments du TIGRIS DTS System. Sur le site de test externe, 2 opérateurs ont effectué 3 listes de travail valides chacun par lot de réactifs sur 1 instrument du TIGRIS DTS System. Une liste de travail consistait en contrôles de série et six panels de 12 membres. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques n'ont pas été testés à nouveau. Onze échantillons ont donné des résultats finaux invalides et ont été exclus des analyses de reproductibilité.

La reproductibilité a été déterminée en calculant la concordance entre les résultats finaux du test et le résultat attendu pour chaque membre du panel. La reproductibilité a également été évaluée en calculant le SD (écart-type) et le coefficient de variation (CV) du signal concernant les sites, opérateurs, lots et listes de travail. Les CV n'ont pas été calculés pour les membres des panels négatifs à GC en raison des valeurs de signal faibles qui pourraient théoriquement équivaloir à zéro. Le tableau 13 donne les résultats de la reproductibilité. Tous les résultats du test GC APTIMA sur le TIGRIS DTS System concordaient avec les résultats prévus pour les membres du panel contenant 0, 250, 25 000, et 250 000 fg de rRNA GC / test. Pour les membres du panel contenant 2500 fg de rRNA GC /test, la concordance avec les résultats prévus était de 99,8 %. Les valeurs CV étaient inférieures ou égales à 9,0 %. Ces données indiquent une reproductibilité excellente du test GC APTIMA avec le TIGRIS DTS System.

Tableau 13 : Données de précision pour le TIGRIS DTS System

Conc. (fg de rRNA par test)	n	Moyenne RLU (x 1000)	% Concord.	D'un site à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une liste de travail à l'autre		Dans une même liste de travail	
				SD (x 1000)	CV (%)	SD[1] (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
0	859[2]	4,6	100	1,7	S.O.	0.0	S.O.	0,3	S.O.	0,7	S.O.	2,7	S.O.
250	429[3]	4148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2500	429[4]	5361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25 000	430[5]	5871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250 000	431[6]	6037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

Concord. = concordance, Conc. = concentration, CV = coefficient de variation, S.O. = ne s'applique pas aux échantillons négatifs, RLU = unité relative de lumière, SD = écart-type.

[1] Des valeurs SD et CV sont établies à 0 et 0,0 %, respectivement, selon le modèle des effets aléatoires, si la variabilité due à cette source par rapport aux erreurs aléatoires et/ou à la variation d'autres sources est numériquement négative.

[2] Il y a eu 4 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, il manquait 1 réplicat de chaque membre de panel négatif pour GC dans une liste de travail.

[3] Il y a eu 3 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides.

[4] Il y a eu 2 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, il manquait 1 réplicat de chaque membre de panel négatif avec 2500 fg de rRNA GC/test dans deux listes de travail et 1 liste de travail comportait un réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 2500 fg rRNA GC/test.

[5] Il y a eu 2 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, une liste de travail comportait 1 réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 25 000 fg de rRNA GC/test. Il manquait également à cette même liste de travail 1 réplicat d'un autre membre du panel avec 25 000 fg de rRNA GC/test.

[6] Il manquait à une liste de travail 1 réplicat d'un membre du panel avec 250 000 fg de rRNA GC/test.

Remarque : Les échantillons dont les résultats aux tests étaient invalides ont été exclus. L'analyse de variabilité du signal comporte des échantillons avec des résultats discordants.

Performance analytique du TIGRIS DTS System

Consultez la section *Performance analytique du PANTHER System* pour la performance analytique spécifique au PANTHER System.

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les panels de sensibilité des pools d'échantillons endocervicaux sur écouvillon, pools d'échantillons vaginaux sur écouvillon, pools d'échantillons d'urine et pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été préparés avec 250 fg/test de rRNA GC et 60 réplicats ont été testés sur le TIGRIS DTS System. Le pourcentage de positivité (IC à 95 %) sur le TIGRIS DTS System était de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons d'urine, et de 100% (95,1 - 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Étude clinique des panels enrichis avec du rRNA GC

L'étude clinique des panels enrichis avec du rRNA GC a permis d'évaluer la concordance entre les deux systèmes en utilisant six panels cliniques de GC préparés par Gen-Probe et enrichis avec de 0 à 250 000 fg de rRNA/test de GC. Les panels cliniques de GC ont été créés avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, d'urine masculins, d'urine féminins, et de frottis en milieu liquide PreservCyt ayant donné des résultats GC APTIMA négatifs sur les DTS Systems lorsqu'ils ont été testés chez Gen-Probe. Les échantillons négatifs ont été groupés par type d'échantillon, enrichis ou non enrichis avec du rRNA GC et aliquotés comme réplicats de chacun des membres du panel. Les réplicats de chacun des 6 membres du panel avec des taux d'enrichissement en rRNA différents ont été combinés de manière à créer un panel clinique de chaque type d'échantillon. Chaque panel contenait un total de 132 réplicats.

Les données initiales des échantillons d'urine masculins et féminins indiquent que certains des membres du panel contenant un taux de rRNA inférieur au seuil de sensibilité analytique revendiqué ont donné des résultats négatifs inattendus sur le TIGRIS DTS System. Deux études de suivi ont été réalisées pour démontrer et confirmer la concordance avec les résultats attendus dans les panels d'échantillons d'urine masculins et féminins enrichis. Le plan de l'étude original combinait des échantillons négatifs dans un seul pool principal. Le plan de l'étude de suivi pour les échantillons d'urine masculins et féminins a été modifié. Les échantillons ont été aliquotés en mini pools négatifs confirmés pour créer les panels positifs et négatifs. Cent trente-huit réplicats ont été créés pour chaque panel.

Le tableau 14 indique le pourcentage de concordance de chaque concentration de rRNA dans les panels respectifs des écouvillons endocervicaux, écouvillons vaginaux, écouvillons urétraux mâles, échantillons d'urine masculins, échantillons d'urine féminins et de frottis en milieu liquide PreservCyt avec les résultats GC attendus pour le TIGRIS DTS System et les DTS Systems. La concentration s'échelonnait de 1 log en dessous à 3 logs au-dessus des 250 fg de rRNA/test pour GC. Le tableau 14 indique également le pourcentage de concordance globale de l'étude des panels cliniques entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems.

Tableau 14 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA GC

Échantillon		Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance TIGRIS	% concordance DTS	% de concordance globale entre TIGRIS et DTS (IC à 95 %)
Écouvillon	Endocervical	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	25	30	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Vaginal	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	25	29*	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Urétral	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	25	30	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
Urine Homme	Étude initiale	Sans cible	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
		Très faible	25	30	63.3 (19/30)	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Suivi 1	Sans cible	0	18	100	100	100 (97,4-100)
		Très faible	25	30	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Suivi 2	Sans cible	0	18	100	100	100 (97,4-100)
		Très faible	25	30	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	

*Non testé sur les deux systèmes en raison du volume insuffisant de l'échantillon

Tableau 14 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA GC (suite)

Échantillon		Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance TIGRIS	% concordance DTS	% de concordance globale entre TIGRIS et DTS (IC à 95 %)
Urine Femme	Étude initiale	Sans cible	0	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
		Très faible	25	30	13,3 (4/30)	100	
		Faible	250	30	80 (24/30)	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Suivi 1	Sans cible	0	18	100	100	99,3 (96,0-100)
		Très faible	25	30	96,7 (29/30)	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
	Suivi 2	Sans cible	0	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
		Très faible	25	30	90 (27/30)	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	
Échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt		Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	25	30	100	100	
		Faible	250	30	100	100	
		Médiane	2500	30	100	100	
		Elevée	250 000	30	100	100	

*Non testé sur les deux systèmes en raison du volume insuffisant de l'échantillon

Étude de l'équivalence de la spécificité analytique

Pour un test d'amplification de l'acide nucléique, la spécificité analytique concernant les organismes individuels est largement déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d'oligonucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du test GC APTIMA sont identiques entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems, les expérimentations de spécificité analytique sur le TIGRIS DTS System étaient destinées à porter sur les isolats de culture les plus complexes. Parmi ces organismes figuraient ceux qui sont connus pour avoir une réactivité croisée dans d'autres tests d'amplification. Vingt-quatre (24) isolats de culture ont été sélectionnés dans le panel d'organismes du Tableau 11, y compris 17 organismes qui sont très étroitement apparentés à GC. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs à l'exception d'un résultat faussement positif (1/648). Le cas a été observé avec *C. pneumoniae* où 1 réplicat sur les 27 testés a donné un résultat faux. Les tests de répétition n'ont pas supporté la réactivité croisée avec cet organisme *(C. pneumoniae)* étant donné qu'aucun test positif n'a été observé avec les 6 réplicats de test supplémentaires.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang total, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux et connue pour interférer avec certains tests d'amplification, a été utilisé pour démontrer que le TIGRIS DTS System tolère des taux de substances potentiellement interférentes similaires à ceux du DTS Systems. Du sang frais a été ajouté aux pools d'échantillons cliniques et vaginaux sur écouvillon, d'urine, et de frottis en milieu liquide PreservCyt, puis testés pour rechercher une éventuelle interférence au test en l'absence et en présence de la cible GC avec un rRNA estimé équivalent à 50 CFU de GC/test (250 fg/test). Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Les échantillons ont été testés sur deux TIGRIS DTS Systems. Tous les échantillons contenant l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils ont été testés à un taux de sang de 10 % dans les échantillons cliniques sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, et de frottis en milieu liquide PreservCyt, et de 30 % de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible étaient négatifs pour GC. Ces résultats indiquent que, aux concentrations testées, le sang total n'affecte vraisemblablement pas les résultats de GC sur le TIGRIS DTS System.

Études de la contamination de transfert pour le TIGRIS DTS System

Afin d'établir que le TIGRIS DTS System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert, une étude a été réalisée à l'aide de panels enrichis sur trois TIGRIS DTS Systems. L'étude a utilisé 20 % des échantillons avec une valeur cible élevée contenant 1,0 x 10^9 cellules/réaction, qui ont été aléatoirement répartis parmi les 80 % d'échantillons négatifs contenant le milieu de transport de l'écouvillon. Dans l'étude, 576 échantillons avec une valeur cible élevée et 2376 échantillons négatifs ont été testés sur les trois TIGRIS DTS Systems. Le tableau 15 indique que le taux de contamination de transfert globalétait en moyenne de 0,21 % (5/2370). Au total, 6 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse séparée a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs ayant immédiatement suivi des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de transfert de ce sous-ensemble de population était en moyenne de 0,95 % (4/422). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert variait de 0 % à 2,16 % sur les trois TIGRIS DTS Systems. Ces résultats ont démontré que la contamination est minimisée sur le TIGRIS DTS System.

Tableau 15 : Résumé de la contamination de transfert globale avec le TIGRIS DTS System

Instrument	Nbre de tests négatifs valides	Nbre total de résultats GC faussement positifs	% de résultats GC faussement positifs	Intervalles de confiance (IC à 95 %)
TIGRIS 1	787	0[a]	0,00	0,00 - 0,38
TIGRIS 2	791	1[b]	0,13	0,00 - 0,70
TIGRIS 3	792	4[c]	0,51	0,14 - 0,29
Tous les instruments	2370	5	0,21	0,07 - 0,49

a. Aucun résultat GC faussement positif n'a été détecté avec l'appareil TIGRIS DTS System 1 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

b. Un résultat GC faussement positif a été détecté avec l'appareil TIGRIS DTS System 2 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

c. Trois résultats GC faussement positifs ont été détectés avec l'appareil TIGRIS DTS System 3 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

Performance analytique du PANTHER System

Étude de la concordance du panel clinique ensemencé

Des échantillons individuels d'urine dont les résultats étaient négatifs ont été ensemencés avec GC afin de constituer un panel de 120 échantillons positifs pour GC. Les membres du panel positif pour GC ont été ensemencés avec 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL ou 1250 CFU/mL (soit 25 fg/test, 250 fg/test ou 2500 fg/test). De plus, 120 échantillons d'urine négatifs pour GC ont été collectés. Les panels positifs et négatifs ont été analysés sur trois PANTHER Systems et trois TIGRIS DTS Systems. Le pourcentage de concordance positive entre le PANTHER System et le TIGRIS DTS System était de 100 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 98,9. Le pourcentage de concordance négative entre le PANTHER System et le TIGRIS DTS System était de 100 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 98,9. Les résultats de cette étude sont présentées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Étude de la concordance du panel clinique ensemencé : concordance avec les résultats attendus pour GC

Membre du panel	Concentration		Réplicats	TIGRIS % de concordance	PANTHER % de concordance
	CFU/mL	fg/test			
Très faiblement positif	12,5	25	117	100	100
Faiblement positif	125	250	120	100	100
Moyennement positif	1250	2500	120	100	100
Négatif	0	0	360	100	100

Pourcentage de concordance globale positive entre TIGRIS DTS System et PANTHER System (IC à 95) : 100 % (98,9-100).
Pourcentage de concordance globale négative entre TIGRIS DTS System et PANTHER System (IC à 95) : 100 % (98,9-100).

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test GC APTIMA a été évaluée en utilisant trois matrices d'échantillons représentatives. Ces dernières se composaient d'urine traitée avec du milieu de transport d'urine (urine transport medium, UTM), du milieu liquide pour frottis PreservCyt dilué avec du milieu de transport pour écouvillon (swab transport medium, STM) et du STM. Des pools de ces trois matrices ont été ensemencés avec du rRNA GC aux concentrations suivantes : 25 fg/test, 250 fg/test et 2500 fg/test (conc. rRNA équivalentes de 12,5 IFU/mL, 125 IFU/mL et 1250 IFU/mL). Les équivalents rRNA étaient calculés d'après la taille du génome et le rapport DNA:RNA estimé par cellule pour chaque organisme. Ces panels ont été analysés sur trois appareils PANTHER en réplicats de 96 et en utilisant deux lots de réactifs. La concordance positive avec les résultats attendus a été calculée. La concordance avec les résultats attendus était de 100 % (IC à 95 % : 96,2 à 100 %) pour tous les panels d'urine, de 100 %, (IC à 95 % : 96,2 à 100 %) pour tous les panels de frottis en milieu liquide PreservCyt, et de 100 % (IC à 95 % : 96,1 à 100 %) pour tous les panels STM. Le seuil de sensibilité analytique pour ce test est de 125 CFU/mL.

Étude de reproductibilité

La précision du test GC APTIMA a été évaluée sur trois systèmes PANTHER et avec deux lots de kits GC APTIMA pendant une période de 24 jours. Les panels ont été constitués par enrichissement du STM avec du rRNA GC aux concentrations présentées dans le tableau 17. Les opérateurs ont effectué deux séries d'analyses par jour, chaque échantillon de panels étant présent en duplicat dans les séries. La concordance avec les résultats attendus a été calculé et la précision du test a été estimé selon les directives NCCLS EP5-A2 (14). Le nombre total de réplicats par panel était de 96. Le tableau 17 donne les données de précision concernant des mesures RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus pour les calculs de variabilité entre instruments, entre lots, entre séries et au sein d'une même série.

Tableau 17 : Précision du PANTHER System pour le test GC APTIMA

Matrice	GC (CFU/mL)	N	RLU moyenne (x 1000)	% Concord.	Entre instruments		Entre lots		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
					SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Urine	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, SD = 0 et CV = 0 %.

* présence d'un réplicat invalide sur 96, ce réplicat n'a pas été réanalysé.

Spécificité analytique

La spécificité analytique n'a pas été évaluée sur le PANTHER System. Veuillez consulter l'*Étude de l'équivalence de la spécificité analytique* sous *Performance analytique du TIGRIS DTS System*.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux, peut interférer avec certains tests d'amplification. Le degré d'interférence éventuel produit par la présence de sang a été déterminé en utilisant du sang entier. Du sang frais a été ajouté aux pools cliniques d'échantillons vaginaux sur écouvillon, d'urine, de frottis en milieu liquide PreservCyt traités ou aux échantillons d'urine et puis testés pour rechercher une éventuelle interférence au test en l'absence et en présence de GC. La concentration équivalente de rRNA estimée de 125 GC CFU/mL (250 fg/test) a été utilisée comme concentration cible car elle correspond au seuil de sensibilité analytique du test. Les échantillons ont été analysés sur le PANTHER System. Tous les échantillons contenant de l'acide nucléique cible étaient

positifs lorsqu'ils étaient testés à une concentration de 10 % (vol/vol) de sang dans les échantillons sur écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, ou de 30 % (vol/vol) de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons ne contenant pas de cible ont été identifiés correctement comme négatifs. Ces résultats sont identiques à ceux démontrés pour les DTS Systems lorsque les mêmes quantités de sang leur sont rajoutées. La présence de sang dans les échantillons sur écouvillon, de PreservCyt et d'urine à des niveaux bien supérieurs à ceux attendus lors du recueil normal d'échantillons n'a pas interféré avec les résultats produits par le PANTHER System.

Études de contamination par transfert pour le PANTHER System

Afin d'établir que le PANTHER System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination par transfert, une étude analytique a été réalisée sur plusieurs séries et sur trois systèmes PANTHER à l'aide de panels ensemencés. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de GC parmi les échantillons négatifs (environ 20 % du total). Les séries comprenaient des regroupements d'échantillons fortement positifs et des regroupements d'échantillons négatifs ainsi que des échantillons fortement positifs isolés disposés de manière spécifique dans la série. Les échantillons à titre élevés étaient préparés en ajoutant du rRNA de GC dans du STM pour obtenir une concentration finale de 5×10^5 fg rRNA/réaction (conc. équivalente de rRNA de $2{,}5 \times 10^5$ CFU/mL). L'analyse a été réalisée pour 5 séries sur trois systèmes PANTHER pour, au total, 2923 échantillons négatifs. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % avec un intervalle de confiance de 95 % (0 à 0,1 %). Au total, 17 échantillons négatifs de séries ayant un titre élevé ont été signalés comme invalides et exclus des calculs.

Bibliographie

1. **Centers for Disease Control and Prevention**. 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the APTIMA Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31**. Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
7. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.
8. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander**. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. 4:288-295.
11. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
12. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
14. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).

15. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
16. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
18. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
19. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. **123**:753-757.
20. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee**. 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. J. Clin. Microbiol. **36**:2666-2670.
21. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. J. Clin. Microbiol. **36**:2356-2358.
22. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
23. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **37**:74-80.

Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121

Pour nous contacter aux États-Unis et dans d'autres pays :
Service Client : +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Service Client : +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Service technique : +1 858 410 8511
technicalsupport@gen-probe.com

Numéro d'appel gratuit à partir des Etats-Unis et du Canada :
Service Client : +1 800 523 5001
Service technique : +1 888 484 4747

www.gen-probe.com

EC REP

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, La Haye
Pays-Bas

GEN-PROBE, GEN-PROBE et son logo, APTIMA, APTIMA et son logo, APTIMA COMBO 2, DTS, LEADER, PANTHER, SB100 et TIGRIS sont des marques déposées de Gen-Probe Incorporated.

eppendorf (stylisé) et REPEATER sont des marques de commerce d'Eppendorf AG.

PRESERVCYT et THINPREP sont des marques commerciales de Hologic, Inc.

KOVA-TROL est une marque de commerce de Hycor Biomedical, Inc.

RAININ est une marque de commerce de Rainin Instrument, LLC.

TECAN et FREEDOM EVO sont des marques de commerce de Tecan Group AG.

Tout autre nom de marque pouvant apparaître sur cette notice de test appartient à son propriétaire respectif.

© 2003–2013 Gen-Probe Incorporated

502185FR Rév. E
2013-04